



Alzira Yamasaki

Estudos de adsorção de metais com interesse ambiental utilizando sensores acústicos de cristais piezoelétricos de quartzo



Alzira Yamasaki

Estudos de adsorção de metais com interesse ambiental utilizando sensores acústicos de cristais piezoelétricos de quartzo

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria Teresa S. R. Gomes, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

*Ao meu marido, que sempre me acompanhou
e nunca permitiu que eu pensasse em desistir !!*

“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra.

Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, mas não vai sozinha nem nos deixará só, porque leva um pouco de nós e deixa um pouco de si.

Há os que levam muito e deixam pouco, há os que levam pouco e deixam muito.

Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que não nos encontramos por acaso.”

Charles Chaplin

o júri

presidente

Professor Doutor José Carlos da Silva Neves
professor catedrático da Universidade de Aveiro

Professor Doutor Armando da Costa Duarte
professor catedrático da Universidade de Aveiro

Professor Doutor João António Baptista Pereira de Oliveira
professor associado da Universidade de Aveiro

Professora Doutora Maria Teresa Seabra dos Reis Gomes
professora associada da Universidade de Aveiro

Professor Doutor Vittorio Ferrari
professor associado da Universidade de Brescia - Itália

Professora Doutora Filomena Maria da Rocha Meneses de Oliveira Soares
professora auxiliar da Escola de Engenharia da Universidade do Minho

agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus, por ter-me dado forças para enfrentar todos os obstáculos que são inerentes à vida;

À Universidade Federal de Pelotas, por ter-me permitido vir fazer este curso;

À Universidade de Aveiro, por ter-me aceito e concedido todas as condições necessárias para a realização deste trabalho;

À Professora M. Teresa S. R. Gomes, pela orientação, disponibilidade e oportunidade na execução deste trabalho;

Ao Professor Armando Duarte, pela oportunidade de ter vindo trabalhar neste departamento;

Ao Professor João A. B. P. Oliveira, pela colaboração concedida;

À Professora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha, pela preciosa colaboração no trabalho microbiológico;

À Professora Maria Adelaide de Pinho Almeida, pela disponibilidade e ajuda no trabalho microbiológico;

À Isabel Henriques, pela contribuição na determinação do DNA das bactérias;

À Dra. Teresa Caldeira, pela disponibilidade e incentivo que me foram muito úteis para a realização deste trabalho;

À Maria da Conceição, pela ajuda e pelo companheirismo nos momentos que tivemos dentro e fora do laboratório, a minha eterna consideração;

À Beth, minha primeira companheira de trabalho quando cheguei à Portugal e que muito me apoiou e ajudou em todos os momentos;

À Cristina Yamasaki pela revisão do texto deste trabalho;

A todos os colegas que por aqui passaram, que de uma forma ou outra sempre me ajudaram em tudo o que lhes era solicitado;

A todos os funcionários de dentro e fora do Departamento de Química, que sempre me ajudaram quando solicitados. Em especial, não poderia deixar de mencionar o Sr. Morais e Sr. Ivo pela preciosa colaboração no fabrico das células.

Muito Obrigada!

palavras-chave

sensores acústicos, metais pesados, adsorção, microbalança eletroquímica de cristais de quartzo.

resumo

A descarga de efluentes industriais, deposições atmosféricas, esgotos dos centros urbanos e contaminação proveniente de explorações agrícolas têm contribuído muito para o aumento da carga de metais pesados nos ambientes aquáticos. É desejável que a quantificação desses metais se faça por técnicas baratas, fiáveis e simples de utilizar, de modo a torná-las mais aplicáveis e permitir difundir os seus resultados na sociedade. A Microbalança de Cristal de Quartzo, MCQ, é um dispositivo piezoelétrico que alia a sua elevada sensibilidade à simplicidade e demonstrou já capacidade para produzir resultados fiáveis em análises quantitativas. No entanto, a MCQ não possui sensibilidade necessária para detectar metais ao nível de traços, tornando-se necessário fazer uso da Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo (MECQ), a qual dá informações complementares importantes em relação às técnicas eletroquímicas usuais, tais como mudanças de massa à superfície do eletrodo ou mudanças na viscosidade e densidade da solução. A leitura da massa depositada no eletrodo do cristal de quartzo, por Voltametria de Redissolução Anódica, permitiu determinar a concentração de cobre, dissolvido e na matéria particulada, existente na Ria de Aveiro, com limite de detecção de $1,46 \mu\text{g L}^{-1}$.

A MECQ permitiu ainda estudar, sob uma nova perspectiva, os fenómenos de complexação. Essa possibilidade foi explorada mediante estudos da interação do chumbo com os ácidos húmicos.

Estudos que envolveram processos de adsorção do cobre e do chumbo nos ambientes aquáticos foram também realizados com a MCQ. Porém, torna-se importante salientar que as concentrações dos metais em estudo estiveram na ordem dos mg L^{-1} . Esses estudos foram concretizados recorrendo-se a modelos tão próximos quanto possíveis da natureza, colocando-se o cobre e o chumbo em contato com substâncias que simularam o material orgânico (ácidos húmicos) e os óxidos metálicos (Fe e Mn). Essa pesquisa se realizou revestindo-se os cristais de quartzo com substâncias que permitiram modelar esses componentes, existentes nos sistemas estuarinos. A superfície dos cristais revestidos foi estudada recorrendo-se à Difração de Raios X, a fim de se realizar a caracterização mineralógica dos produtos sintetizados que foram empregados para revestir o cristal piezoelétrico.

Os ensaios biológicos, seguidos em tempo real, consistiram no desenvolvimento de uma metodologia para monitorar o crescimento de bactérias originárias da Ria de Aveiro, na presença de quantidades conhecidas de cobre, por meio dos cristais de quartzo. Com essa metodologia, foi possível determinar a quantidade a partir da qual o cobre se tornava tóxico e provocava a destruição das bactérias.

keywords

acoustic sensors, heavy metals, adsorption, electrochemistry quartz crystal microbalance.

abstract

The discharge of industrial effluent, atmospheric depositions, sewers of the urban centers and contamination proceeding from agricultural explorations have been contributing to the increase of the heavy metal loading in aquatic environment. The availability of simple and inexpensive techniques to quantify those metals would allow the analysis to be made on a rotinary basis and their results to be widespreaded between the population. The Quartz Crystal Microbalance, QCM, is well known by its sensitivity and simplicity and was already shown to be able to produce reliable results in quantitative analysis. However, the QCM does not possess the necessary sensitivity to detect metals at trace level, becoming necessary to include an electrochemical pre-concentration stage. The Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, EQCM, gives important complementary information in relation to the usual electrochemical techniques, such as changes of mass onto the surface of the electrode and changes in viscosity and density of the solution. The reading of the mass deposited on the electrode of the quartz crystal, by Anodic Stripping Voltammetry, allowed to determine the copper concentration, dissolved and in the particulate matter, existing in Ria de Aveiro, with a detention limit of $1,46 \mu\text{g L}^{-1}$.

The EQCM also allowed studying the complexation phenomena, under a new perspective. This possibility was explored by studying the interaction of lead with the humic acids.

Adsorptions of copper and lead in aquatic environment have also been carried out with the QCM. However, it is important to point out that the concentration of the metals on these studies had been in the range of mg L^{-1} . These studies had been done using models to mimic adsorption in the nature. Copper and lead were put in contact with substances that simulated the organic material (humic acids) and metallic oxides (Fe and Mn). This research was carried out coating the quartz crystals with the humic acids and metallic oxides. The surface of coated crystals was studied by XR diffraction, in order to characterize mineralogicaly the synthesized products that have been used to coat the piezoelectric crystal.

The biological assays, followed in real time, used a methodology specially developed to monitor the growth of bacteria isolated from Ria de Aveiro. These studies were carried out both in the absence and in the presence of well-known amounts of copper, using quartz crystals. With this methodology, it was possible to determine the amount of copper beyond which toxicity was detected and provoked the destruction of the bacteria.

1 Introdução.....1**2 Sensores Acústicos de Cristais Piezoelétricos.....3**

2.1 Piezoeletricidade.....	3
2.2 Cristais de Quartzo.....	5
2.3 Microbalança de Cristais de Quartzo.....	6
2.4 Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo.....	8
2.5 Referências Bibliográficas.....	10

3 Metais pesados no ambiente.....14

3.1 Essencialidade e Toxicidade dos Metais.....	14
3.2 Cobre.....	15
3.3 Chumbo.....	16
3.4 Impacto dos Metais nos Ecossistemas Aquáticos.....	17
3.4.1 Metais no Ambiente Aquático.....	17
3.4.2 Distribuição dos Metais no Ambiente Aquático.....	17
3.5 Especificação de um Cátion Metálico.....	19
3.5.1 Óxidos de Ferro e Manganês.....	20
3.5.2 Ácidos Húmicos.....	22
3.6 Transporte de Poluentes nos Sistemas Estuarinos.....	23
3.7 Descrição da Área Estudada.....	25
3.8 Referências Bibliográficas.....	27

4 Instrumentação e Procedimento Experimental.....35

4.1 Considerações Gerais.....	35
4.2 Reagentes.....	35
4.3 Lavagem e Preparo do Material.....	35
4.4 Arranjo Experimental da Microbalança de Cristal de Quartzo.....	36
4.5 Arranjo Experimental da Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo.....	37
4.6 Revestimento dos Cristais Piezoelétricos.....	41
4.7 Referências Bibliográficas.....	42

5 A Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo em Estudos de Metais com Interesse Ambiental.....43

5.1 A Eletroquímica Aplicada a Soluções de Cu^{2+} e Pb^{2+} Utilizando um Cristal Piezoelétrico de Quartzo.....	43
5.2 Materiais e Métodos.....	45
5.2.1 Instrumentação.....	45
5.2.2 Reagentes.....	45
5.2.3 Procedimentos.....	46
5.2.3.1 Coleta, Acondicionamento e Preservação das Amostras.....	46
5.2.3.2 Preparo das Amostras para Análise.....	47
5.2.4 Técnicas de Análise.....	48
5.2.4.1 Voltametria Cíclica.....	48
5.2.4.2 Voltametria de Redissolução Anódica.....	48
5.3 Resultados e Discussão.....	49
5.3.1 Utilização da MECQ para Estudo do Comportamento de Metais em Soluções-Padrão.....	49
5.3.1.1 Estudo dos Potenciais de Deposição.....	49
5.3.1.2 Tempo de Acumulação.....	50
5.3.1.3 Voltametria Cíclica.....	51
5.3.1.4 Voltametria de Redissolução Anódica.....	53
5.3.1.5 Adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} na Superfície do Cristal Piezoelétrico.....	54
5.3.1.5.1 Adsorção na Ausência de Potencial Aplicado.....	54
5.3.1.5.2 Estudo da Deposição de Metais em Subtensão.....	56
5.3.1.6 Estudos de Complexação do Pb^{2+} com Ácidos Húmicos.....	62
5.3.2 Utilização da MECQ para Determinação de Metais em Amostras Reais.....	63
5.3.2.1 Teores de Cobre Encontrados nas Amostras de Água da Ria de Aveiro.....	63
5.4 Conclusões.....	66
5.5 Referências Bibliográficas.....	67

6 Estudos de Adsorção de Cu e Pb Utilizando a Microbalança de Cristais de Quartzo.....71

6.1 Os processos de Adsorção e as Interações dos Íons Metálicos.....	71
6.2 Material e Métodos.....	73

6.2.1 Instrumentação.....	73
6.2.2 Reagentes.....	74
6.2.3 Procedimentos.....	74
6.2.3.1 Revestimento dos Cristais Piezoelétricos com MnO_2 , $\alpha\text{-FeOOH}$ e Ácido Húmico.....	74
6.2.3.2 Caracterização dos Revestimentos por Difração de RX.....	75
6.2.4 Adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} em Tampão PIPES no Cristal Revestido com MnO_2 , $\alpha\text{-FeOOH}$ e AH.....	75
6.2.5 Determinação do pH do Sedimento da Ria de Aveiro.....	76
6.3 Resultados e Discussão.....	77
6.3.1 Quantidade de Revestimento nos Cristais de Quartzo.....	77
6.3.2 Caracterização Mineralógica de $\alpha\text{-FeOOH}$ e MnO_2	77
6.3.3 Investigação das Isotermas de Adsorção para os Cátions Cu e Pb.....	78
6.3.4 Tratamentos dos Dados das isotermas.....	86
6.4 Conclusão.....	91
6.5 Referências Bibliográficas.....	92

7 Estudo da Toxicidade do Cobre em Bactérias Utilizando a Microbalança de Cristais de Quartzo.....95

7.1 As Bactérias Marinhas e sua Importância.....	95
7.2 Material e Métodos.....	97
7.2.1 Procedimentos.....	97
7.2.1.1 Coleta e Acondicionamento das Amostras.....	97
7.2.1.2 Isolamento e Identificação Bacteriana.....	97
7.2.2 Reagentes e Soluções.....	97
7.2.3 Instrumentação.....	98
7.2.3.1 Monitoração do Crescimento Bacteriano Utilizando a MCQ.....	98
7.2.3.2 Monitoração do Crescimento Bacteriano Utilizando a Espectrofotometria UV-VIS.....	99
7.2.3.3 Estudo da Morfologia Bacteriana.....	99
7.2.3.4 Determinação da Concentração de Cobre na Água da Ria.....	100
7.2.3.5 Determinação da Viscosidade do Meio bacteriano.....	100
7.3 Resultados e Discussão.....	101
7.3.1 Identificação da Bactéria.....	101

7.3.2 Monitoração do Crescimento Bacteriano no Cristal Piezoelétrico e o Efeito do Cobre.....	101
7.3.3 Monitoração do Crescimento Bacteriano Comparando-se a MCQ com a Espectrofotometria no UV-VIS.....	109
7.3.4 Estudo dos efeitos do Cu^{2+} na Morfologia das Bactérias.....	111
7.4 Conclusões.....	113
7.5 Referências Bibliográficas.....	114
8 Conclusão Geral	115

Tabela 5.1 Correntes correspondentes ao Cu^{2+} e Pb^{2+} obtidos a diferentes potenciais.....	49
Tabela 5.2 Tempos de acumulação para o Cu^{2+} e Pb^{2+} na etapa de pré-concentração.....	50
Tabela 5.3 Correntes de redissolução para Cu^{2+} e Pb^{2+} obtidos após muitas velocidades de varredura.....	60
Tabela 6.1 Constantes de Langmuir e coeficientes de correlação obtidos para Cu^{2+} quando em contato com $\alpha\text{-FeOOH}$, MnO_2 e AH.....	87
Tabela 6.2 Constantes de Langmuir e coeficientes de correlação obtidos para Pb^{2+} quando em contato com $\alpha\text{-FeOOH}$, MnO_2 e AH.....	88
Tabela 6.3 Constantes de Langmuir para Cu^{2+} e Pb^{2+} quando em contato com MnO_2 a concentrações entre 1 e 52 mg L^{-1}	90
Tabela 7.1 Velocidades de crescimento bacteriano corrigidos com o controle.....	104
Tabela 7.2 Crescimento bacteriano corrigido com controle ao longo de 4 h e 10 min.....	105
Tabela 7.3 Tempo em segundos para iniciar o crescimento bacteriano.....	107

Figura 2.1 Representação do deslocamento cisalhante dos planos do cristal piezoelétrico.....	3
Figura 2.2 Vistas superior e lateral de um cristal de quartzo com depósitos metálicos em ambos os lados.....	4
Figura 3.1 Representação esquemática de interações e transportes admitidos para íons metálicos em um ambiente aquático.....	19
Figura 3.2 Ria de Aveiro e localização dos pontos de coleta das amostras.....	25
Figura 4.1 Arranjo experimental com MCQ.....	36
Figura 4.2 Célula de PVC.....	36
Figura 4.3 Célula termostatizada.....	37
Figura 4.4 Arranjo experimental da MECQ.....	38
Figura 4.5 Célula eletroquímica com eletrodos.....	39
Figura 5.1 Esquema experimental detalhado da MECQ.....	45
Figura 5.2 VC obtido com tampão acetato pH 4,75, 5 m Vs ⁻¹	51
Figura 5.3 VC de uma solução de Cu ²⁺ 63,82 mg L ⁻¹ e Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ , pH = 4,75.....	52
Figura 5.4 VC de uma solução de Cu ²⁺ 63,82 mg L ⁻¹ e Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ , pH = 6,00.....	53
Figura 5.5 VRA de uma solução de Cu ²⁺ 63,82 mg L ⁻¹ e Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ a 5 mV s ⁻¹	54
Figura 5.6 Massa depositada no cristal piezoelétrico (a) Cu ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ , (b) Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹	55
Figura 5.7 VC de tampão acetato com Cu ²⁺ adsorvido no cristal de quartzo.....	55
Figura 5.8 VC de tampão acetato com Pb ²⁺ adsorvido no cristal de quartzo.....	56
Figura 5.9 VRA de uma solução de Pb ²⁺ com 20,00 mg L ⁻¹ em vários períodos de acumulação.....	57
Figura 5.10 VC de uma solução de Cu ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ e Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ a 5, 20 e 70 mV s ⁻¹	58
Figura 5.11 Massa depositada no cristal de quartzo com solução de Cu ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ e Pb ²⁺ 85,10 mg L ⁻¹ a 5, 20 e 70 mV s ⁻¹	59
Figura 5.12 VRA de uma solução de Cu ²⁺ e Pb ²⁺ com 35,00 mg L ⁻¹ e 90,00 mg L ⁻¹ a 5 mV s ⁻¹	61
Figura 5.13 VRA de uma solução de Pb ²⁺ com e sem ácido húmico, em tampão acetato pH 4,75.....	62
Figura 5.14: Cu dissolvido (a) e cobre na matéria particulada (b).....	63

Figura 6.1 Representação esquemática utilizada para os estudos de adsorção.....	73
Figura 6.2 Difrátograma de RX para o MnO_2	77
Figura 6.3 Difrátograma de RX para o $\alpha\text{-FeOOH}$	78
Figuras 6.4 a e b Variações de frequência provocadas pelo Pb^{2+} e Cu^{2+} , $28,00 \text{ mg L}^{-1}$, quando em contato com o MnO_2 , para temperaturas entre 10 e 50°C	79
Figura 6.5 Decréscimos de frequência provocados pelo Cu^{2+} , a concentrações entre 1 e 52 mg L^{-1} , quando em contato com o MnO_2	80
Figura 6.6 Decréscimos de frequência provocados pelo Pb^{2+} , a concentrações entre 1 e 52 mg L^{-1} , quando em contato com o MnO_2	81
Figura 6.7 Decréscimos de frequência obtidos com Cu^{2+} e Pb^{2+} em contato com MnO_2 a 25°C	82
Figura 6.8 Variações de frequência provocadas pelo Cu^{2+} (a) e Pb^{2+} (b), 28 mg L^{-1} , quando em contato com $\alpha\text{-FeOOH}$, para temperaturas entre 10 e 50°C	83
Figura 6.9 Decréscimos de frequência obtidos com Cu^{2+} e Pb^{2+} em contato com $\alpha\text{-FeOOH}$ a 25°C	83
Figuras 6.10 Variações de frequência provocadas pelo Cu^{2+} (a) e Pb^{2+} (b), 28 mg L^{-1} , quando em contato com o AH, para temperaturas variando entre 10 e 50°C	84
Figura 6.11 Decréscimos de frequência obtidos com Cu^{2+} e Pb^{2+} em contato com AH a 25°C	85
Figura 6.12 Representação das constantes de Langmuir em função do inverso da temperatura para cobre em $\alpha\text{-FeOOH}$	86
Figura 7.1 Esquema da monitoração do crescimento bacteriano.....	98
Figura 7.2 Crescimentos bacterianos em MN com diferentes concentrações de Cu^{2+}	102
Figura 7.3 Crescimentos bacterianos em água da ria com diferentes concentrações de Cu^{2+}	103
Figura 7.4 Velocidades de crescimento bacteriano em água da ria e MN corrigidas com o controle.....	104
Figura 7.5 Crescimento bacteriano em água da ria e MN corrigidas com o controle ao longo de 4h e 10 min	106
Figura 7.6 Tempo em minutos para iniciar o crescimento bacteriano.....	107
Figura 7.7 Monitoração dos crescimentos bacterianos em MCQ e Espectrofotometria com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+}	109
Figura 7.8 Imagem bacteriana em MN.....	111

Figura 7.9 Imagem bacteriana em MN com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} após 33 minutos.....	111
Figura 7.10 Imagem bacteriana em MN com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} após 24 horas.....	112

Lista de símbolos:

A: a área revestida (cm²)

AF: Ácidos Fúlvicos

AH: Ácidos Húmicos

C_M : concentração do cátion na solução

F: frequência

MCQ: Microbalança de Cristal de Quartzo

MECQ: Microbalança Eletroquímica de Cristal de Quartzo

MN: meio nutritivo

PVC: Cloreto de Polivinila

SH: Substâncias Húmicas

SHA: Substâncias Húmicas Aquáticas

v : velocidade de propagação da onda acústica

VC: Voltametria Cíclica

VRA: Voltametria de Redissolução Anódica

η : Viscosidade

μ_C : módulo de cisalhamento

ρ_C : densidade do quartzo

ΔF : variação de frequência

ΔM_f : massa do revestimento

K: coeficiente de equilíbrio de Langmuir

Γ_{max} : capacidade máxima de adsorção

Γ : densidade de adsorção do cátion no revestimento

ΔH^0 : entalpia de adsorção

TEM: Microscopia Eletrônica de Transmissão

UV: Ultra Violeta

1 *Introdução*

Nas últimas décadas, as ciências analíticas têm experimentado um grande avanço em relação à capacidade de obter informações químicas de objetos e sistemas. Como resultado, essas informações têm proporcionado um desenvolvimento analítico, bem como sua interligação com outras áreas científicas e técnicas, de forma a resultar na automação e conseqüente simplificação dos sistemas. Assim sendo, verificam-se o desenvolvimento e o uso apropriado de sistemas de referência, a revitalização da análise qualitativa, a expansão das fronteiras analíticas clássicas e o desenvolvimento de sistemas analíticos e sensores químicos. Nesse contexto, os sensores químicos têm adquirido grande importância devido à possibilidade de aplicação desses instrumentos não só para a avaliação de processos sintéticos ou biológicos, mas também para o entendimento dos mesmos. Sensores químicos são dispositivos que transformam uma informação química, como a variação da concentração de um componente específico de uma amostra em relação à composição total, em um sinal analítico útil. Em particular, torna-se importante mencionar os sensores de massa baseados em Microbalanças de Cristais Piezoelétricos de Quartzo (MCQ), que devem o seu reconhecimento à elevada sensibilidade e estabilidade e aos baixos custos de produção. Nesses sensores, o quartzo tem tido um papel predominante como substrato piezoelétrico mais utilizado.

Com esta pesquisa, pretendeu-se, além de desenvolver sensores baseados em cristais de quartzo, estabelecer metodologias analíticas utilizando a Microbalança Eletroquímica de Cristal de Quartzo (MECQ).

A primeira fase do trabalho consistiu em desenvolver uma metodologia para quantificar cobre, dissolvido e na matéria particulada, utilizando a MECQ em conjunção com a Voltametria de Redissolução Anódica, a qual, através da etapa de pré-concentração, permitiu detectar o cobre até $1,46 \mu\text{g L}^{-1}$.

A segunda fase do trabalho baseou-se no uso das técnicas voltamétricas, ainda com o cristal piezoelétrico como eletrodo de trabalho, em estudos de adsorção. Essa possibilidade foi explorada mediante estudos realizados com o chumbo em contato com ácido húmico.

A terceira fase do trabalho consistiu em realizar estudos de adsorção do cobre e do chumbo em contato com substâncias que simulassem o material orgânico e os óxidos metálicos. Essa pesquisa se concretizou revestindo-se os cristais com substâncias que permitiram modelar esses componentes, existentes nos sistemas estuarinos. A superfície dos cristais revestidos foi estudada recorrendo-se à difração de raios X, a fim de se realizar a caracterização mineralógica dos produtos sintetizados que foram utilizados para revestir o cristal piezoelétrico.

A quarta fase do trabalho consistiu em desenvolver uma metodologia que permitiu monitorar o crescimento das bactérias isoladas da Ria de Aveiro, em tempo real, tanto em presença como na ausência de cobre, utilizando a MCQ. Com essa metodologia, foi possível determinar o efeito do cobre nas bactérias e a quantidade a partir da qual o cobre se tornava tóxico e provocava sua destruição.

Com os estudos realizados, foi possível concluir que as metodologias utilizadas são úteis e adequadas não só à observação dos fenômenos existentes nos ambientes estuarinos, como também à detecção de possíveis problemas que neles possam existir.

2.1 Piezoeletricidade

A piezoeletricidade é definida como a propriedade que certos materiais apresentam — como o quartzo, a turmalina e o sal de Rochelle (tartarato duplo de sódio e potássio) [1,2] — têm para desenvolver entre as superfícies deformadas uma diferença de potencial proporcional à pressão aplicada. Essa descoberta foi realizada pela primeira vez por Jacques e Pierre Currie em 1880 [1,2,3,4], e a designação *piezoeletricidade* foi sugerida apenas um ano mais tarde, em 1881, por W. Henkel [3,4].

Quando há variação na polaridade da perturbação mecânica, varia também a polaridade do campo elétrico gerado. Esse fenômeno é denominado *efeito piezoelétrico direto* e os cristais que exibem tal efeito são chamados *cristais piezoelétricos*. Também é possível aplicar um campo elétrico sobre o material piezoelétrico, provocando uma deformação denominada *efeito piezoelétrico reverso*.

Quando a perturbação elétrica tem as características adequadas (amplitude e frequência), as quais são determinadas pela geometria e pelas propriedades do cristal, este oscilará mecanicamente de um modo ressonante [5,6,7]. Isso significa que um cristal piezoelétrico pode oscilar em seu modo de cisalhamento (propagação da onda perpendicularmente ao campo elétrico), devido ao efeito piezoelétrico reverso. A Figura 2.1 mostra um esquema que representa o deslocamento cisalhante dos planos do cristal quando se aplica um campo elétrico perpendicular à superfície do mesmo [5,6,7].

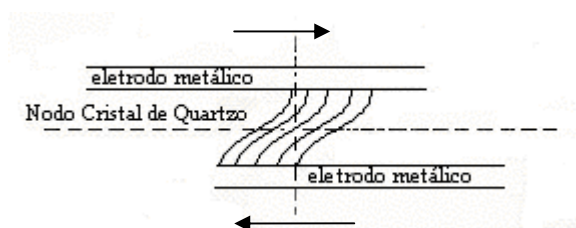


Figura 2.1 Representação do deslocamento cisalhante dos planos do cristal piezoelétrico

Com uma excitação de 1 Volt e utilizando frequências entre 5 e 15 MHz, com um dos eletrodos conectado à terra, cria-se uma onda de cisalhamento do cristal com um

deslocamento físico paralelo ao plano da superfície e perpendicular ao campo elétrico aplicado. A frequência da onda acústica está relacionada com a espessura do cristal, de acordo com a equação (2.1) [5,6,7]:

$$f_0 = \frac{v}{2t_c} \quad v = \left(\frac{\mu_c}{\rho_c} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.1)$$

onde v é a velocidade de propagação da onda acústica no quartzo ($3,34 \times 10^4 \text{ m s}^{-1}$ para um cristal de corte AT), t_c é a espessura do disco, μ_c é o módulo de cisalhamento ($2,95 \times 10^{11} \text{ g cm}^{-1} \text{ s}^{-2}$) e ρ_c é a densidade do quartzo ($2,65 \text{ g cm}^{-3}$).

No cristal de quartzo, o campo elétrico é aplicado sobre eletrodos de depósitos metálicos feitos sobre ambas as faces do disco [6,7]. Na Figura 2.2 encontram-se ilustradas a visão superior e a visão lateral de um cristal de quartzo com depósitos de um metal (ouro, por exemplo) para aplicação do campo elétrico.

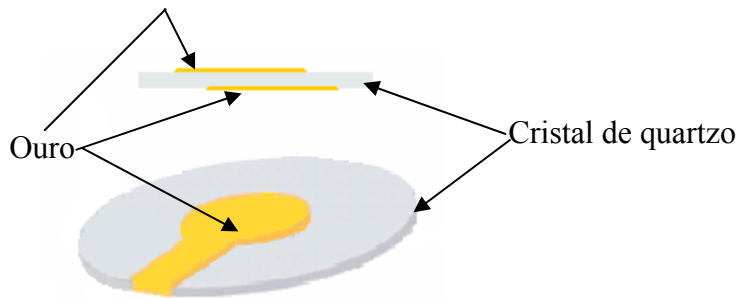


Figura 2.2 Vistas superior e lateral de um cristal de quartzo com depósitos metálicos em ambos os lados

Um cristal que vibre no modo de cisalhamento deve apresentar os dois fios condutores o mais afastados possível do centro do cristal, de modo a evitar interferências na vibração.

2.2 Cristais de Quartzo

Os cristais de quartzo podem ser classificados em 32 classes, de acordo com os seus elementos de simetria em nível cristalográfico, sendo que 21 não possuem centro de simetria, uma das condições exigidas para a existência da piezoeletricidade. Dessas 21 classes, 20 possuem propriedades piezoelétricas [3].

O quartzo alfa (α -SiO₂) é o cristal piezoelétrico mais comum devido às suas características de ser inerte, insolúvel em água e resistir termicamente até 579° C sem haver alteração de suas propriedades piezoelétricas [1]. Além disso, ele apresenta um excelente fator de qualidade (Q), sendo essa razão entre a energia armazenada e a energia perdida por ciclo durante a oscilação que garante a estabilidade da frequência [6,7].

Cristais de tipos distintos são obtidos dependendo do ângulo de corte em relação aos eixos do monocristal. No caso de aplicações em sensores com cristais vibrando no modo de cisalhamento, os mais comuns são os de corte AT, devido ao coeficiente de dependência com a temperatura ser praticamente zero para temperatura igual a 25° C, o que permite se trabalhar com frequências muito estáveis à temperatura ambiente [8]. No entanto, é importante ressaltar neste ponto que a dependência em relação à temperatura, no caso dos cristais de quartzo em líquidos, está relacionada fundamentalmente às variações da viscosidade e densidade do meio [5,6,9,10,11].

Os cristais podem ser obtidos comercialmente por meio de diferentes tratamentos superficiais, e os mais comuns são os mecanicamente polidos e opticamente rugosos. As superfícies com essas características incrementam a aderência do metal sobre o cristal, mas podem causar problemas na determinação das variações das frequências quando o cristal é transferido do ar para um líquido. As frequências fundamentais mais utilizadas estão entre 5 e 10 MHz, porque os cristais têm espessuras razoáveis que facilitam o manuseio e o arranjo experimental.

2.3 Microbalança de Cristais de Quartzo

A Microbalança de Cristais de Quartzo (MCQ) baseia-se no fato de que a variação de massa à superfície do cristal provoca variação na frequência de vibração. Sauerbrey [12] demonstrou que essa variação de frequência é linearmente proporcional à massa depositada, podendo ser expressa segundo a equação (2.2), onde ΔF é a variação de frequência decorrente do revestimento (Hz), F a frequência da placa de quartzo (MHz), ΔM_f a massa do revestimento depositado (g) e A a área revestida (cm²).

$$\Delta F = -2,26 \times 10^6 F^2 \frac{\Delta M_f}{A} \quad (2.2)$$

Assim, Sauerbrey demonstrou que a frequência de ressonância em série diminuía à medida que se adicionava massa à superfície do sensor, porque a distância percorrida pela onda acústica, desde uma face do sensor até a outra face, aumentava devido ao aumento da espessura da massa adicionada. Por meio dessa teoria, Sauerbrey considerava que o filme adicionado possuía as mesmas propriedades acústicas que o quartzo, e que se tratava de um filme rígido uniformemente distribuído.

Para ser possível a detecção de um determinado analito, é essencial que a espécie a ser detectada interaja com os eletrodos depositados na superfície do cristal de forma a fazer variar a massa sobre o mesmo [13,14,15,16,17]. No caso de não existir essa interação, ou de ela ser insuficiente, reveste-se o cristal com um filme que adsorva ou absorva, tão especificamente quanto possível, o analito [15,16,17].

As aplicações iniciais da MCQ em ambientes líquidos não obtiveram êxito, uma vez que o cristal de quartzo cessava o movimento de oscilação quando imerso em solução. Dessa forma, as análises eram conduzidas mediante a conversão da amostra à fase gasosa ou mediante processos de imersão do cristal na solução [15]. A primeira aplicação de um dispositivo acústico como sensor em fase líquida que obteve sucesso foi conduzida por Konash e Bastiaans [18] por meio do emprego de cristais piezoelétricos de quartzo como

detectores de massa para cromatografia líquida. Eles concluíram que uma massa adicional sobre o cristal provocava uma dissipação de energia do cristal para o líquido através da propagação de uma onda perpendicular ao cristal. Nomura e Okuhara [19], ao estudar as variações de frequência obtidas pela imersão de uma das faces do cristal em 17 líquidos orgânicos, sugeriram a relação da variação da frequência com a densidade (ρ) e a viscosidade (η) do líquido, como mostra a equação (2.3), tendo em conta que os parâmetros **a** e **b** são constantes que dependem do cristal utilizado.

$$\Delta f = a\rho^{1/2} + b\eta^{1/2} \quad (2.3)$$

Esses investigadores concluíram que o cristal não oscilava na presença de líquidos de elevada densidade e/ou viscosidade. Bruckenstein e Shay [14] apresentaram uma teoria semelhante à apresentada por Kanazawa e Gordon [15,20] na mesma época, baseada num modelo físico simples no qual se considerava o cristal de quartzo como um sólido elástico sem perdas, e o líquido, como um fluido puramente viscoso. Segundo esses estudiosos, a variação de frequência era provocada pelo acoplamento da oscilação do cristal com a propagação de uma onda de cisalhamento amortecida no líquido, onde o comprimento de decaimento da onda era uma função da densidade e da viscosidade no interior do líquido. Com base nessa teoria, Bruckenstein derivou uma expressão que relaciona a variação da frequência com as propriedades da solução, conforme a equação (2.4), onde Δf é a variação de frequência, n o número de faces em contato com o líquido, f a frequência de ressonância em série (Hz) e η_L e ρ_L a viscosidade e a densidade do líquido, respectivamente:

$$\Delta f = -2,26 \times 10^{-6} n f^{3/2} (\eta_L \rho_L)^{1/2} \quad (2.4)$$

Após os trabalhos conduzidos por Nomura e Okuhara [19], outros grupos de pesquisa comprovaram que, além da viscosidade e da densidade do líquido, alguns parâmetros são de grande relevância para a aplicação da MCQ em ambientes líquidos: estrutura da interface sólido/solução [21], condutividade e temperatura [22,23], viscosidade interfacial e características hidrofílicas e hidrofóbicas da superfície do cristal [24,25], uniformidade do filme sobre o cristal [23] e extensão da área do cristal em contato com a solução [26].

Após essa investigação, concluiu-se que uma MCQ pode funcionar em meio líquido, mas que nem sempre se comporta como previsto pela equação de Bruckenstein, uma vez que vários fatores podem influenciar o comportamento do oscilador. Contudo, na maior parte das aplicações das microbalanças, a relação mais utilizada continua a ser a de Sauerbrey e Bruckenstein, muito embora, devido às simplificações feitas em suas deduções, essas equações passem a ser semiquantitativas e outros fatores como a fixação mecânica do cristal ou a temperatura possam afetar a exatidão absoluta. Por esse motivo, é necessário empregar curvas de calibração nos trabalhos quantitativos [27].

Atualmente as MCQ encontram-se largamente difundidas pelas mais diversas áreas: são utilizadas como sensores bioquímicos, [28,29], na detecção de poluentes gasosos e solventes orgânicos em águas [30,31] e também na detecção de metais em eletroquímica [32,33].

2.4 Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo

A Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo (MECQ) tem como princípio de operação o efeito piezoelétrico e tem sido utilizada no estudo de reações eletroquímicas que produzem modificações na interface eletrodo/eletrolito, onde uma das faces do cristal está em contato com uma solução eletrolítica e o próprio cristal piezoelétrico é o eletrodo de trabalho. Dessa forma, o eletrodo é utilizado para originar a oscilação do cristal e a reação redox é produzida pela aplicação de um sinal de potencial. Nesse caso, para induzir a oscilação mecânica, um campo elétrico é aplicado entre os dois depósitos metálicos sobre o cristal, e o circuito elétrico utilizado para produzir a oscilação mecânica está situado o mais próximo possível do quartzo a fim de evitar interferências que produzam variações na frequência de oscilação. Desse modo, a reação redox produzida pela aplicação da perturbação eletroquímica irá gerar variações de massa que serão observadas como variações da frequência do cristal.

A aplicação de um campo elétrico alternado para produzir a oscilação no centro do cristal está confinada à região do cristal que é definida pela superfície do filme metálico depositado. Em geral, um dos maiores problemas experimentais está relacionado à aderência desses depósitos metálicos sobre o cristal de quartzo, pois a má aderência produz

grande instabilidade na frequência de ressonância medida. Em geral se utiliza cromo para incrementar a aderência, mas isso representa um problema sob o ponto de vista eletroquímico, tendo em vista que o cromo pode difundir-se através do metal de interesse. Outra possibilidade é empregar um tratamento químico do cristal com um adesivo molecular como o 3-mercaptopropil trimetoxisilano antes do depósito metálico por processo de evaporação, que, segundo Goss *et al.* [34], produz filmes metálicos com excelente aderência e uma alta qualidade, sob o ponto de vista eletroquímico. Ainda que seja um problema ao qual deveria se dedicar atenção especial, a grande maioria dos autores não faz menção a esse pormenor e continua a usar o cromo para incrementar a aderência do ouro no cristal de quartzo.

De forma geral, as microbalanças destacam-se pela simplicidade do aparato experimental utilizado e pela resolução de aproximadamente 0,01 ng para um cristal de corte AT com frequência de vibração de 10 MHz, onde durante um tempo de integração de 0,01 s é possível medir variações de 0,01 Hz. O aumento do tempo de integração determina a qualidade da medida de frequência e deve ser definido em função do compromisso entre a velocidade da reação e a qualidade da medida desejada.

2.5 Referências Bibliográficas

- [1] Hlavay, J.; Guilbault, G.G. *Applications of the Piezoelectric Crystal Detector in Analytical Chemistry*. Anal. Chem. **1977**, 49, 1890-1898.
- [2] Alder, J.F.; McCallum, J.J. *Piezoelectric Crystals for Mass and Chemical Measurements, A Review*. Analyst **1983**, 108, 1169-1189.
- [3] Buchanan, R.C. *Ceramic Materials for Electronics – Processing, properties and alitions*, 2nd Edition, Marcel Dekker Inc.: New York, Basel, Hong Kong, 1983.
- [4] Taylor, G.W.; Gagnepain, J.J.; Meeker, T.R.; Nakamura, T.; Shuvalov, L.A. *Piezoelectricity – Ferroelectricity and related phenomena*. Vol 4 Gordon and Breach Science Publishers, 1985
- [5] Deakin M. R., Buttry, D.A. *Electrochemical Applications of the Quartz Crystal Microbalance Quartz Microbalance*. Anal. Chem., **1989**, 61, 20, 1147A-1154A.
- [6] Buttry, D.A.; Ward, M.D. *Measurement of Interfacial Processes at Electrode Surfaces with the Electrochemical Quartz Microbalance*. Chem. Rev., **1992**, 92, 1355-1379.
- [7] Varela, H.; Malta, M.; Torresi, M. *Técnicas in situ de baixo custo em eletroquímica: A Microbalança a Cristal de Quartz*. Química Nova **2000**, 23, 5, 664-679.
- [8] Schmitt, R.; Allen, J.W.; Vetelino, J.F.; Parks, J.; Zhang, C. *Bulk acoustic wave modes in quartz for sensing measurand-induced mechanical and electrical property changes*. Sens. Actuators B **2001**, 76, 95-102.
- [9] Gomes, M.T.S.R. *Is a quartz crystal really mass sensor?* Current Topics in Anal. Chem. **2001**, 187-193.
- [10] Gomes, M.T.S.R. *Bulk Acoustic Wave Sensors in Chemical Analysis in: Smart Sensors*. Kluwer Academic Publishers **2005**, 421-445.

- [11] Yamasaki A.; Cunha M.A.S.D.A.; Oliveira J.A.B.P.; Duarte A. C.; Gomes M.T.S.R. *Assessment of copper toxicity using an acoustic wave sensor*. Bios. and Bioel. **2004**, 19, 1203–1208.
- [12] Sauerbrey, G. *Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung*. Physik, **1959**, 155, 206-222.
- [13] Cattrall R., W. *Chemical Sensors*. Oxford University Press Inc.: New York, 1997.
- [14] Bruckenstein, S.; Shay, M. *Experimental aspects of use of the quartz crystal microbalance in solution*. Electrochim. Acta **1985**, 30, 1295.
- [15] Kanazawa, K. K.; Gordon, J. G. *Frequency of a Quartz Microbalance in Contact with Liquid*. Anal. Chem. **1985**, 57, 1770.
- [16] Ward, M.D. *Principles and Applications of the electrochemical quartz crystal microbalance* In: *Physical Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*. Ed by Israel Rubinstein, 1995, pp 293-338.
- [17] Gomes, M.T.S.R., Duarte, A.C.; Oliveira, J.A.B.P. *Critical assessment of the parameters that affect the selection of coating compounds for piezoelectric quartz crystal microbalances*. Talanta **1999**, 48, 81-89.
- [18] Konash, P.L; Bastiaans, G.J. *Piezoelectric crystals as detectors in liquid chromatography*. Anal. Chem **1980**, 52, 1929-1931.
- [19] Nomura, T.; Okuhara, M. *Frequency shifts of piezoelectric quartz crystals immersed in organic liquids*. Anal. Chim. Acta **1982**, 142, 281-284.
- [20] Kanazawa, K.K.; Gordon, J.G. *The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with liquid* . Anal. Chim. Acta **1985**, 175, 99-105.
- [21] Schumacher, R.; Borges, G.; Kanazawa, K. K. *The quartz microbalance: A sensitive tool to probe surface reconstructions on gold electrodes in liquid*. Surf. Science **1985**, 163, L621.

- [22] Muramatsu, H.; Dicks, J. M.; Tamiya, E.; Karube, I. *Piezoelectric crystal biosensor modified with protein A for determination of immunoglobulins*. Anal. Chem. **1987**, 59, 2760.
- [23] Yao, S.-Z.; Zhou, T.-A. *Dependence of the oscillation frequency of a piezoelectric crystal on the physical parameters of liquids*. Anal. Chim. Acta **1988**, 212, 61.
- [24] Thompson, M.; Arthur, C. L.; Dhaliwal, G. K. *Liquid-phase piezoelectric and acoustic transmission studies of interfacial immunochemistry*. Anal. Chem. **1986**, 58, 1206.
- [25] Ward, M. D.; Delawski, E. J. *Radial mass sensitivity of the quartz crystal microbalance in liquid media*. Anal. Chem. **1991**, 63, 886.
- [26] Hillier, A. C.; Ward, M. D. *Scanning electrochemical mass sensitivity mapping of the quartz crystal microbalance in liquid media*. Anal. Chem., **1992**, 64, 2539.
- [27] Janata, J. *Principles of Chemical Sensors*; Plenum Press: Nova York, 1990.
- [28] Palecek, E.; Fojta, M.; Tomschik, M.; Wang, J. *Electrochemical biosensors for DNA hybridization and DNA damage*. Biosens. Bioelectron. **1998**, 13, 621.
- [29] Cosnier, S.; Perrot, H.; Wessel, R. *Biotinylated Polypyrrole Modified Quartz Crystal Microbalance for the Fast and Reagentless Determination of Avidin Concentration*. Electroanalysis **2001**, 13, 971.
- [30] Komura, T.; Niu, G. Y.; Yamaguchi, T.; Asano, M. *Redox and ionic-binding switched fluorescence of phenosafranine and thionine included in Nafion® films*. Electrochim. Acta **2003**, 48, 631.
- [31] Snook, G. A.; Bond, A. M.; Fletcher, S.; J. *The use of massograms and voltammograms for distinguishing five basic combinations of charge transfer and mass transfer at electrode surfaces*. Electroanal. Chem **2002**, 526, 1.
- [32] Mao, Y. A.; Wei, W. Z.; Zhang, J. Z.; Peng, H.; Wu, L. *A new piezoelectric response model for protein adsorption kinetics at a solid-liquid interface*. Microchem. J. **2001**, 70, 133.

[33] Yamasaki, A.; Oliveira, J.A.B.P.; Duarte, A.C. Gomes, M.T.S.R *Application of an acoustic wave sensor for copper quantification in the water and particulate matter of the Ria de Aveiro*. 9th International Conference on Environmental Science and Technology, A1653-A1658, 2005.

[34] Goss, C. A.; Charych, D. H.; Majda, M. *Application of (3- Mercaptopropyl) trimethoxysilane as a Molecular Adhesive in the Fabrication of Vapor-Deposited Gold Electrodes on Glass Substrates*. Anal. Chem. **1991**, 63, 85.

3.1 Essencialidade e Toxicidade de Metais

Os elementos conhecidos como metais são aqueles cujo peso específico é aproximadamente igual ou superior a 5, definindo-se peso específico como a razão entre a densidade do metal e a densidade da água a 4 °C [1]. Isso inclui a maioria dos metais de transição e alguns dos metais dos grupos III A, IV A, V A e VI A da tabela periódica dos elementos.

O termo metal pesado, embora não seja bem definido, é amplamente reconhecido e utilizado para um grupo de metais que estão associados à poluição e à toxicidade, tais como chumbo, cádmio, mercúrio e arsênio. Também se incluem alguns outros considerados biologicamente essenciais, caso se apresentem em baixas concentrações, como cobalto, cobre, manganês, selênio e zinco [1,2,3].

Metais pesados não implicam necessariamente “metais tóxicos”. Muitos deles são considerados nutrientes indispensáveis às plantas e seres vivos, desde que em baixas concentrações. O cobre e o zinco, por exemplo, compõem o sistema doador de elétrons nos complexos enzimáticos; entretanto, são considerados tóxicos se forem ingeridos numa concentração além da necessária ao bom funcionamento do organismo [1,2,3].

A presença de metais no ambiente aquático em concentrações elevadas causa a mortalidade de peixes e comunidades bentônica, planctônica, nectônica e de seres fotossintetizantes.

Nos solos, os metais pesados podem ser retidos por diferentes mecanismos, sobretudo quando são ricos em matéria orgânica e possuem pH maior que 7. Porém, com a presença da chuva, podem ser lixiviados com conseqüente entrada dos mesmos nos aquíferos [4]. A introdução desses metais no organismo humano, via cadeia alimentar, pode provocar inúmeras doenças devido ao seu efeito cumulativo, podendo até causar a morte [5].

3.2 Cobre

O cobre ocupa o 26º lugar em abundância na crosta terrestre. Na natureza, ocorre na forma de minérios, sendo mais comuns os óxidos, os sulfetos e os carbonatos. O cobre é o primeiro elemento do grupo I B da tabela periódica, pertence à série dos metais de transição e pode ser encontrado nos estados de oxidação +1, +2 e +3 [1,2,3], porém seu estado mais importante no meio ambiente aquático *in natura* é o bivalente.

Em ambientes aquáticos, ocorre tanto na forma solúvel como particulada e coloidal, sendo estas duas últimas as mais frequentes. A fração solúvel pode conter tanto o íon livre como o complexado a ligantes orgânicos e inorgânicos [6,7]. Sua especiação em águas naturais é determinada por características físicas, químicas, hidrodinâmicas e biológicas do ambiente. Seu transporte também se dá principalmente na forma adsorvida aos sedimentos, resultando em níveis de resíduos muito altos. As taxas dessa adsorção variam de acordo com: o tipo de sedimento, o pH, os cátions competidores e a presença de ligantes e óxidos de Fe e Mn [7]. A desorção, por sua vez, também depende do pH, da salinidade e da presença de compostos quelantes naturais ou artificiais.

Diversas proteínas contedoras de cobre têm sido identificadas em sistemas biológicos, como por exemplo a hemocianina. Cobre e Ferro estiveram envolvidos na seleção natural de células aeróbicas e na evolução de metaloproteínas e metaloenzimas. Essa evolução resultou no desenvolvimento de enzimas de cobre e zinco, enzimas de cobre e ferro e proteínas transportadoras de oxigênio [8]. Sendo assim, por estar presente em praticamente todos os organismos vivos, esse metal é considerado essencial em baixas concentrações [8,9,10]. O cobre não é considerado cancerígeno ou mutagênico, no entanto, em excesso pode provocar náuseas, vômitos, dor abdominal, alteração do estado mental e, em casos mais graves, a morte [11]. Contudo sua deficiência no organismo também acarreta problemas, pois se trata de um metal necessário na constituição óssea, no sangue, no metabolismo do colesterol e da glicose, na contração do músculo cardíaco, no desenvolvimento cerebral, podendo causar anemia, artrite reumatóide, doenças cardíacas e diminuição da resistência às infecções [11]. Alguns seres vivos, como os moluscos, por exemplo, são essencialmente dependentes desse metal, porém também em baixas concentrações [10,12,13].

3.3 Chumbo

O chumbo é um elemento do grupo IV A e suas formas estáveis são Pb^{2+} e Pb^{4+} . Ocorre na crosta terrestre na forma de vários minerais, sendo as mais importantes a galena (PbS), a cerusita ($PbCO_3$) e a anglesita ($PbSO_4$) [14,15,16].

Em ambientes aquáticos, apesar de a forma mais biodisponível ser a do cátion livre Pb^{2+} , a principal forma dissolvida de chumbo poderá ser o $Pb(OH)^+$ [17] com pH acima de 6; e somente com valores de pH superiores a 10 haverá formação de compostos de baixa solubilidade, tais como hidróxidos, carbonatos, sulfetos e sulfatos [15,16,19]. Em águas salgadas a tendência é formar complexos com cloretos e hidróxidos [16,17]. Nos rios, 75 % do chumbo encontra-se no material em suspensão e 25 % em solução, mas essa relação torna-se diferente em águas salgadas, sendo de aproximadamente 1:1. Nos estuários, a concentração de chumbo pode aumentar significativamente como resultado de fenômenos de res-suspensão ou de origem atmosférica [19].

O chumbo forma compostos moderadamente fortes com a matéria orgânica que contém átomos doadores de elétrons, como o S, N e O, podendo ser, ao lado da associação a óxidos de ferro e manganês, uma das explicações para que em geral uma grande fração do metal se encontre na forma particulada nos estuários [20].

Uma vez que a matéria húmica possui grande afinidade para complexar com o chumbo, nos sedimentos ricos em matéria orgânica o chumbo encontra-se pouco disponível para ser absorvido pelas plantas, caso elas estejam presentes nos sedimentos [21]. Entretanto, devido a esse conteúdo orgânico, o Pb pode sofrer metilação nos sedimentos aquáticos naturais, vindo a formar diversos derivados orgânicos, o que resulta em sérias implicações de toxicidade nos seres humanos, pois esses compostos são mais tóxicos do que os sais inorgânicos de chumbo [7]. As principais fontes de chumbo para o ambiente são produzidas por meio de emissões atmosféricas, além de processos metalúrgicos e efluentes domésticos. É também muito utilizado em baterias.

Em casos de poluição extrema, o chumbo se acumula nos peixes e em outros organismos [14,22]. Seus efeitos maléficos à saúde humana são ainda agravados pelo fato de os alimentos conterem chumbo por contaminação com pesticidas.

3.4 Impacto dos Metais nos Ecossistemas Aquáticos

3.4.1 Metais no Ambiente Aquático

Dentre os diversos contaminantes que em geral ocorrem em ambientes aquáticos, os metais têm recebido atenção especial por se tratar de contaminantes conservativos, não sendo biodegradados ou biotransformados, permanecendo como contaminantes persistentes dentro de ecossistemas e cadeias alimentares específicas [23] e atravessando um ciclo hidrológico global no qual a água é o principal caminho [24]. Diante da expansão do aporte de metais, sua presença nos ecossistemas aquáticos tem despertado interesse sob vários aspectos, incluindo a avaliação do destino e os efeitos desses contaminantes, sua distribuição nas cadeias alimentares e seus ciclos biogeoquímicos [25].

3.4.2 Distribuição dos Metais no Ambiente Aquático

Os metais são encontrados normalmente em rochas, solos e sedimentos, sobretudo em alguma forma estável, que pode ser removida e distribuída por água e ar, e em pequenas quantidades por processos erosivos naturais (que apenas se traduzem em contaminação considerável ao fim de longo tempo).

Nos sistemas aquáticos, os metais estão presentes em reservatórios. Uma descrição simplificada da posição dos metais nesses ecossistemas foi feita por Salomons et al. [26]. Segundo a nomenclatura utilizada, os reservatórios bióticos e abióticos constituem-se dos sedimentos depositados, da água intersticial, do material em suspensão e da água superficial. Sob condições redutoras, os sedimentos podem fornecer à água intersticial altas concentrações de nutrientes e metais pesados, o que pode influenciar a composição da água superficial através de processos de difusão, consolidação, erosão e bioturvação. Outra fonte importante de entrada dos metais é através da deposição por via seca (poeira) ou via úmida (chuva, névoa etc.) na superfície dos lagos. Formações geológicas e solos superficiais da bacia de drenagem são de grande importância para a entrada dos metais no sistema aquático e, conseqüentemente, na determinação da composição química do sistema [27].

Nos ambientes aquáticos, os sedimentos constituem uma fase mineralógica com partículas de tamanho, forma e composição química distintas. Esses materiais, em sua maioria, são depositados nos rios, nos lagos ou no fundo dos oceanos ao longo dos anos. Processos biogeoquímicos, tais como reações de precipitação e transformações biológicas, controlam o acúmulo e a redistribuição de espécies como fitoplâncton, algas e peixes na biota aquática, caracterizando o sedimento como uma parte integrante do sistema natural [1,28].

Os sedimentos desempenham o papel mais importante no esquema de poluição de sistemas de rios por metais pesados. Eles refletem a quantidade corrente do sistema aquático e podem ser usados para detectar a presença de contaminantes que não permanecem solúveis após o seu lançamento em águas superficiais. Mais do que isso, os sedimentos agem como transportadores e possíveis fontes de poluição, pois os metais pesados não são permanentemente fixados por eles e podem ser redistribuídos na água, em decorrência de mudança nas condições ambientais, como pH, potencial redox ou presença de quelantes orgânicos. As propriedades de acúmulo e redistribuição de espécies nos sedimentos os qualificam como extremamente importantes em estudos de impacto ambiental, pois registram em caráter mais permanente os efeitos de contaminação [1,28].

Em ambientes onde a coluna d'água possui pouca profundidade, a taxa de intercâmbio de espécies solúveis pode até dobrar com a ação dos ventos, que também provocam a ressuspensão de sedimentos.

Em depósitos de sedimentos recentes, os metais quase sempre são divididos em duas categorias, de acordo com a origem predominante: litogênico e antropogênico; sendo a primeira de origem geoquímica e a segunda de oriunda de atividades humanas. Metais como zircônio, rubídio e estrôncio são derivados de material de rochas de processos naturais, constituindo a origem litogênica. O segundo grupo é formado por metais que aparecem sobretudo como resultado das atividades antropogênicas, incluindo, entre outros, o cromo, o cobalto, o níquel, o cobre, o zinco, o cádmio, o mercúrio e o chumbo.

3.5 Especificação de um Cátion Metálico

A especificação de um metal em uma amostra de água natural é definida como a determinação das concentrações de suas diferentes formas físico-químicas encontradas em um sistema. Essas formas podem envolver metais ligados às superfícies de sólidos de materiais particulados e cátions dissolvidos, onde os mesmos podem estar como espécies inorgânicas simples ou formando complexos orgânicos [29], influenciando os processos de transporte e toxicidade em um ambiente aquático. A Figura 3.1 mostra a representação esquemática das possíveis interações de um cátion metálico, Me^{n+} , em um sistema aquático.

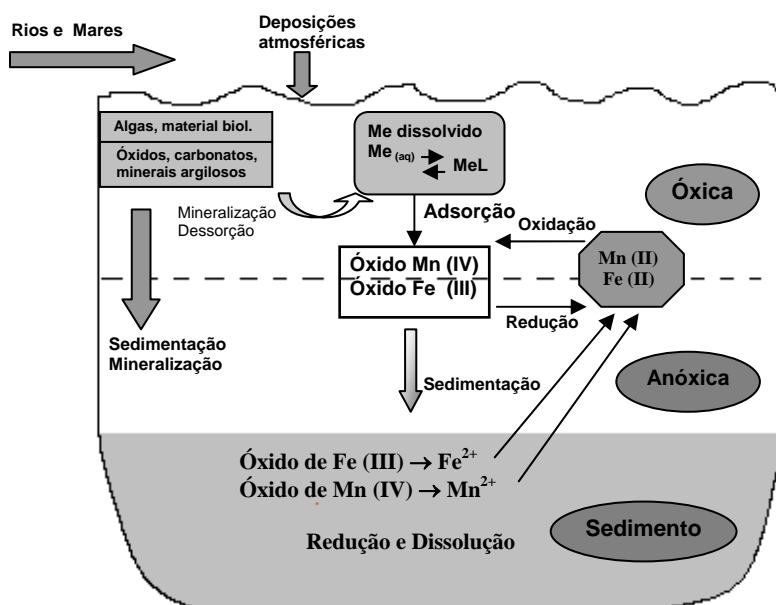


Figura 3.1 Representação esquemática de interações e transportes admitidos para íons metálicos em um ambiente aquático, adaptado de Stumm, 1996 [30].

Na água, os cátions metálicos podem interagir com outras espécies, formando complexos ou permanecendo na forma dissolvida. Podem também se unir a partículas inorgânicas ou orgânicas através de adsorção e assimilação, ficando, nesse caso, na forma particulada. Uma vez na forma particulada, o elemento-traço pode precipitar-se ou sedimentar-se no fundo da coluna de água. Ele retornará à forma dissolvida através da mineralização da

biota, dessorção ou ressolubilização. Próximo à interface água-sedimento, pode ocorrer uma zona anóxica, de depleção de O_2 , na qual reações de redução e dissolução de óxidos de Fe (III) e Mn (IV) podem liberar metais catiônicos (p. e., Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) ou aniões (p. e., AsO_3^{3-}) que se encontravam adsorvidos a esses óxidos. A dissolução desses óxidos leva também à liberação de Fe^{2+} e Mn^{2+} , que, uma vez atingindo a região óxica próxima à superfície, na presença de O_2 sofrem oxidação e reprecipitação, levando mais uma vez à formação de óxidos de Fe (III) e Mn (IV), os quais podem adsorver elementos-traço dissolvidos e, eventualmente, sofrer sedimentação no fundo do lago, ficando sujeitos a novos ciclos de redução e dissolução, e assim por diante.

Em geral, os metais em concentrações a níveis de traços interagem fortemente com as superfícies de materiais particulados, ocasionando a sua remoção da fase aquosa para as fases sólidas. Essas tendem a se sedimentar com o tempo e os metais se acumulam nos sedimentos aquáticos [31].

3.5.1 Óxidos de Ferro e Manganês

Os óxidos e hidróxidos de ferro e manganês encontram-se geralmente revestindo minerais existentes nos sistemas estuarinos, caracterizando-se por uma elevada área superficial específica, com valores determinados na ordem de $300\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ [1,32]. Mesmo em pequenas quantidades, esses óxidos influenciam de forma relevante a distribuição dos metais nos sistemas aquáticos [1]. A adsorção de íons metálicos por esses óxidos pode ser interpretada como decorrente da formação de complexos de superfície ou troca iônica em que os íons hidrogênio ou outros cátions são dessorvidos à medida que os íons metálicos são adsorvidos nos óxidos [33]. O processo de adsorção depende do pH, uma vez que a carga elétrica desses óxidos é função do mesmo [33]. Outro aspecto a considerar na adsorção de metais em óxidos de ferro e manganês é que esses elementos participam nos ciclos de redução/oxidação que ocorrem nos estuários; alguns trabalhos [1,32] verificaram que os sedimentos com condições oxidantes têm capacidade de adsorção superior à dos sedimentos com condições redutoras, porque a redução do ferro e do manganês, presentes nos óxidos e hidróxidos, provoca uma libertação instantânea dos metais adsorvidos. Assim sendo,

esses fatos contribuem para reforçar a hipótese de o ferro e o manganês poderem influenciar a distribuição e o transporte de contaminantes em sistemas aquáticos [1,32].

Nas condições de potencial redox e de pH existentes nas águas naturais oxigenadas, a maior parte do íon ferro dissolvido está na forma de Fe (III), ocorrendo rápida formação de óxido de ferro e restando uma fração relevante desse elemento presente na forma coloidal [32,34]. A remoção das partículas coloidais de ferro em suspensão nos estuários deve-se, principalmente, à desestabilização, com conseqüente agregação e floculação, que ocorre quando essas partículas encontram águas com maior quantidade de cátions, sendo a quantidade de ferro removido tanto maior quanto maior for a salinidade [35,36,37,38]. Em diversos trabalhos de pesquisa também se constatou que, quando a água doce dos rios se mistura com a água do mar, ocorre remoção de metais por floculação dos colóides de óxido de ferro [34,39,40,41].

O manganês é um elemento particularmente importante nos sistemas aquáticos, porque as partículas ou colóides do seu óxido têm propriedades muito adsorptivas [42]. O comportamento do manganês num estuário é dependente dos processos de oxidação/redução do metal [42]. A oxidação do íon solúvel Mn^{2+} em óxido de manganês (MnO_x , com $x = 1.5$ a 2), que rapidamente precipita, é um processo lento que pode, contudo, ser catalisado pelas partículas de óxido do metal que previamente se formaram e pela atividade microbológica [43]. Nos sedimentos superficiais, com mais oxigênio, as concentrações de óxido de manganês em geral são elevadas, mas diminuem bastante e mantêm-se relativamente constantes nas camadas mais profundas do sedimento, onde prevalecem condições anóxicas [44]. Na zona de condições redutoras no sedimento, o manganês passa para a solução na forma Mn^{2+} e, devido ao gradiente de concentração, o íon difunde-se até as camadas mais oxidadas do sedimento, chegando até a coluna de água, onde reprecipita, aumentando a quantidade de óxido à superfície [44]. As partículas mais finas, com maiores quantidades de manganês associado, permanecem algum tempo em suspensão e servem de núcleo catalisador para a oxidação e a precipitação do manganês dissolvido que exista na coluna de água [44].

3.5.2 Ácidos Húmicos

Substâncias húmicas (SH) são misturas naturais de polieletrólitos orgânicos heterogêneos, com composição, estrutura, funcionalidades e massas moleculares variadas [45,46] formadas pela decomposição microbiológica da biomassa em águas e solos [45,47]. Diferem de outras classes de compostos naturais devido à sua estrutura química indefinida e gênese complexa [48,49]. O alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas [50] conferem às SH papel importante na reatividade e no transporte de espécies orgânicas e inorgânicas [46,51]. Operacionalmente, as SH são fracionadas em função de sua solubilidade a diferentes valores de pH em ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) e humina [52]. O AH é a fração solúvel em meio alcalino, o AF é a fração solúvel em meio ácido e em meio alcalino, e a humina é a fração insolúvel nos dois meios [53]. Estruturalmente, as três frações húmicas são semelhantes, diferindo na massa molecular e na quantidade de grupos funcionais [54]. Devido a suas características estruturais, as SH podem interagir com metais [55,56] e compostos orgânicos, como, por exemplo, pesticidas e herbicidas presentes no ambiente [53,57]. Para compreender melhor seu comportamento, as SH têm sido estudadas sob diferentes aspectos, tais como caracterização de estruturas parciais [58], determinação de constantes de equilíbrio de espécies metal-SH [59], labilidade relativa de metais, [60] etc.

A alta capacidade complexante das substâncias húmicas aquáticas (SHA) pode alterar a biodisponibilidade e os efeitos toxicológicos de metais em sistemas aquáticos [61,62]. Os complexos formados entre SHA e espécies metálicas (SHA-M) possuem diferentes estabilidades, as quais são altamente dependentes do pH, das espécies metálicas, da força iônica, da concentração de SHA e das condições redox [63].

Os ácidos húmicos são os principais constituintes do húmus natural e podem ser extraídos de turfeiras (material geológico rico em matéria orgânica), vermicompostos e sistemas aquáticos [64,65]. São compostos com grande capacidade de complexação de metais [50,64,66,67], possuem grande afinidade por compostos orgânicos [53,66] e, devido ao seu estado coloidal e sua estrutura macromolecular, retêm íons metálicos de várias formas,

como adsorção, atração eletrostática ou quelação, vindo a desempenhar um papel importante no comportamento dos metais no meio ambiente [68].

Os AH de solos e sedimentos influenciam a solubilidade de íons metálicos presentes na solução do solo e em águas naturais por meio de sua peculiar capacidade de adsorção de cátions, que é muito dependente da concentração hidrogeniônica do meio. O aumento do pH favorece a dissociação dos vários grupamentos funcionais presentes na matéria orgânica que reagirão com cátions metálicos, formando assim sais simples e quelatos. A solubilidade desses derivados de ácidos húmicos varia de acordo com o elemento envolvido, a presença de outros cátions e o pH do meio, sendo que na faixa alcalina a solubilidade é mais elevada.

3.6 Transporte de Poluentes nos Sistemas Estuarinos

Os estuários são sistemas extremamente dinâmicos, que se movem e mudam constantemente em resposta aos ventos, às marés e ao escoamento dos rios; daí que a compreensão do transporte e do destino dos poluentes nesses sistemas requiera um conhecimento dos processos físicos, químicos e biológicos que aí ocorrem.

Com o estudo e a integração das variáveis que controlam, no espaço e no tempo, a distribuição de poluentes num determinado sistema estuarino, é possível prever os caminhos que eles tomam. Numa perspectiva cíclica, o poluente que entra num estuário por rota pontual ou difusa é controlado pela hidrodinâmica resultante do encontro do rio com o oceano sob a influência das marés, distribuindo-se por duas fases, dissolvida e particulada, de acordo com as condições ambientais. A fase particulada está associada às partículas em suspensão, por isso pode acabar se depositando no fundo, tendo aí o seu destino final, ou, se os sedimentos forem ressuspensos, voltar a ser mobilizada para a coluna de água. A fase dissolvida circula no estuário dependendo do equilíbrio com a fase particulada, e pode receber contribuições importantes das águas intersticiais contaminadas pela concentração de poluentes no leito de sedimentos, sendo por fim exportada para o oceano. A distribuição entre a fase particulada e a dissolvida é um dos mecanismos mais importantes no controle de transporte de poluentes em estuários, e um elevado número de fatores pode influenciar

essa distribuição, como a salinidade, o pH, o equilíbrio oxidação-redução e a complexação por ligantes orgânicos e inorgânicos [32].

O movimento da água num estuário é influenciado pela descarga fluvial a montante e pela maré na fronteira oceânica. A água salgada, mais densa, entra no estuário “mergulhando” por baixo da corrente de água doce proveniente do rio. Para estuários parcialmente ou bem misturados em termos de salinidade, observa-se uma estratificação vertical que tende a ser destruída pela turbulência gerada pela maré [69]. Essa zona de mistura, denominada de turbidez máxima, encontra-se mais a jusante com o aumento da vazão fluvial e mais a montante com uma amplitude de maré superior, e caracteriza-se pela elevada concentração de partículas em suspensão, muito superior às concentrações encontradas a montante e a jusante. Isso acontece por haver condições ótimas para a floculação à medida que a descarga fluvial encontra a cunha de intrusão salina, o que aumenta o fluxo de deposição. Entretanto, a corrente salina junto ao fundo pode ressuspender os sedimentos, injetando-os de novo na coluna de água, possivelmente desagregados, repetindo-se o processo.

A hidrodinâmica, forçada pela maré, é o mecanismo mais importante envolvido no transporte de sedimentos em estuários, originando a componente advectiva do transporte de sedimentos em suspensão, gerando a força de atrito necessária para erodir os sedimentos no fundo e, através da turbulência, assumindo um papel importante na floculação de sedimentos coesivos [70]. A circulação de sedimentos num estuário é por conseguinte um processo cíclico com erosão do leito na fase de enchente da maré, deposição na fase de preia-mar, voltando à erosão na vazante e deposição na baixa-mar, repetindo-se o processo com nova enchente.

3.7 Descrição da Área Estudada

A Ria de Aveiro é uma lagoa costeira de baixa profundidade e zonas extensas entre as marés, estendendo-se por 45 km ao longo da costa ocidental de Portugal, desde Ovar até Mira (latitude média de 38° 5 N). A área molhada da ria é de aproximadamente 47 km² em preia-mar e 43 km² em baixa-mar [71]. A profundidade média é de cerca de 1 metro e a profundidade máxima é mantida artificialmente nos canais de navegação entre 4 e 7 metros. A comunicação com o oceano é feita através do Canal da Barra, que apresenta 1,3 km de comprimento, 350 m de largura e 20 m de profundidade, conforme indicado na Figura 3.2, local onde foram realizadas as coletas das amostras para estudos de metais com interesse ambiental.



Figura 3.2 Ria de Aveiro e localização dos pontos de coleta das amostras

A vazão média de água doce que aflui para a ria é cerca de $40 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Os rios Vouga e Antuã constituem as principais fontes de água doce, com vazões médias anuais de $24 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e $2,4 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente [72]. A circulação no interior da lagoa é dominada pela maré, cuja amplitude varia entre 3,3 m em maré viva e 1,0 m em maré morta.

A Ria de Aveiro é um importante ecossistema da região, da qual dependem múltiplas atividades econômicas, como a indústria, a agricultura, a pesca, o urbanismo e o turismo. O desenvolvimento dessas atividades tem contribuído muito para o aumento da carga de contaminantes, que em sua maioria são de origem antropogênica. A presença de metais pesados e uma grande variedade de compostos orgânicos é resultado de uma intensa atividade portuária, esgotos dos centros urbanos e efluentes industriais (complexo industrial de Estarreja) e agrícolas (pesticidas e fertilizantes), e, além disso, devido à movimentação da água, tende a estender-se também a outras zonas da Ria de Aveiro [73,74]. A contaminação por metais pesados pode levantar problemas de saúde pública, uma vez que as águas da ria são utilizadas para recreação e cultura intensiva de peixes.

3.8 Referências Bibliográficas

- [1] Förstner, U.; U. Wittman, G.T.W. *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag, Berlin, 1979.
- [2] Rasmussen, P. E. *Heavy metals in the environment: a geoscience perspective*. Ottawa. The International Council on Metals and the Environment, 1996.
- [3] Salomons, Wim *Heavy metals problems and solutions*. Berlin, Springer, 1995 - (Environmental science).
- [4] Alloway, Brian John. *Heavy metals in soils*.-London: Blackie Academic & Professional, 1995.
- [5] Berman, E. *Toxic metals and their analysis*. London: Heyden, (Heyden international topics in science), 1980.
- [6] Seligman, P.F.; Zirino, A. *Chemistry, toxicity, and bioavailability of copper and its relationship to regulation in the marine environment*. Tech. Doc. 3044, november 1998, 1-51.
- [7] Florence, T.M. *The speciation of trace elements in waters*. Talanta **1982**, 29:345-364
- [8] FINAL REPORT ICA PROJECT NO. 223 *The Biological importance of copper A Literature Review*. June, 1995.
- [9] Bowen, R.; Gunatilaka, A. *Copper, its Geology and Economics*. Applied Science Publishers Ltd, 366,1977.
- [10] Boulay N.; Edwards, M. *Copper in the urban water cycle*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology **2000** 30 (3):297-326,
- [11] Moore, J. W. and Ramamoorthy, S. *Heavy Metals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessement*. Springer –Verlag New York, 1984.

- [12] Gardner, M.; Dixon, E.; Comber, S. *Copper complexation in english rivers*. Chemical Speciation and Bioavailability **2000**, 12, 1, 1-8.
- [13] Bowen, R.; Gunatilaka, A. *Copper, its Geology and Economics*. Applied Science Publishers Ltd, **1977**, 1-16.
- [14] Hepple, P. *Lead in the Environment*. Applied Science Publishers Ltd, Barking, Essex, 1973.
- [15] World Health Organization –WHO. *Lead*. Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, Chapter 6.7, 2001.
- [16] World Health Organization–WHO. *Lead*.–Geneva, (Environmental health criteria), 1977.
- [17] Yoshida T.; Yamaguchi T.; Iida Y.; Nakayama, S. *XPS Study of Pb (II) adsorption on γ -Al₂O₃ surface at high pH conditions*. J. Nucl. Sc. Tech. **2003**, 9, 672-678.
- [18] Morel, F.Hering, J.G. *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc, 1993.
- [19] Williams, M. R., Millward, G. E., Nimmo, M. and Fones, G. *Fluxes of Cu, Pb and Mn to the North-Eastern Irish Sea: the importance of sedimental and atmospheric inputs*. Marine Pollution Bulletin **1998** 36, 366-375.
- [20] Bryan, G. W. and Langston, W. J. *Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review*. Environmental Pollution **1992** 76, 89-131.
- [21] Caçador, M. I., Madureira, M. J. and Vale, C. *Effects of plants roots on salt-marsh sediment geochemistry*. In: *Muddy Coast Dynamics and Resource Management*. B. W. Flemming, M. T. Delafontaine and G. Liebezeit (Eds.), **2000**, 197-204.
- [22] *The Global Dimensions of Lead Poisoning*. An Initial Analysis. Alliance to end Childhood Lead Poisoning Environmental Defense Fund 1994.

- [23] Smith, R.P. *A primer of environmental toxicology*. Lea & Febiger publ, 1993.
- [24] Tam N. F. Y.; Wong Y. S. *Spatial and Temporal Variations of Heavy Metal Contamination in Sediments of a Mangrove Swamp in Hong Kong*. Marine Pollution Bulletin **1995**, 31, 4-12, 254-261,
- [25] Reinfelder, J.R.; Fisher, N.S.; Luoma S.N; Nichols J.W.; Wange, W.-X. *Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach*. The Sci of the Tot. Environ. **1998**, 219, 117-135
- [26] Salomons, W.; Kerdijk, H. van Pagee H.; Klomp, R.; Scheur, A. *Behavior and impact assessment of heavy metals in estuarine and coastal zones*. In: *Metals on Coastal Environments of Latin America*, U. Seeliger, L.D. Lacerda & S.R. Patchineelan (eds), Springer-Verlag. Germany, **1988**, 157-198.
- [27] Borg, H. *Trace elements in lakes*. In: Salbu, B and Steinnes E (eds). *Trace Elements in Natural Waters*, chapter 8, CRC-Press, Boca Raton FL, 1995, 177-201.
- [28] Song, Yigang. *Sediment-water interactions in anoxic freshwater sediments: mobility of heavy metals and nutrients*.-Berlin, Springer, 1993.
- [29] Florence, T.M., Morrison, G.M. and Stauber, J.L. *Determination of trace element speciation and the role of speciation in aquatic toxicity*. The Sci. of the Tot. Environ., **1992**, 125, 1-13.
- [30] Stumm W. *Aquatic Chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. Processes at the Particle-Water Interface*. A Wiley- Interscience Publication by John Willey & Sons, Inc., 1996.
- [32] Bubbs J.M.; Lester, J.N. *The Impact of heavy metals on lowland rivers and the implications for man and the environment*. The Sci. of the Tot. Environ, **1991**, 100, 207-233.
- [32] Stumm, W.; Morgan, J.J. 1996, *Aquatic Chemistry* – 3^a ed, John Wiley & Sons, 1981.
- [33] Stumm W. *Aquatic Surface Chemistry. Chemical Processes at the Particle-Water Interface*. A Wiley- Interscience Publication by John Willey & Sons, Inc, 1987.

- [34] Li Yuan-Hui, Linda Burkhardt and Hisayuki Teraoka. *Desorption and coagulation of trace elements estuarine mixing*. Geoch. et Cosm. Acta **1984**, 48, 1879-1884.
- [35] Boyle, E. A.; Edmond, J.M.; Sholkovitz, E.R. *The mechanism of iron removal in estuaries*. Geoch. et Cosm. Acta **1977**, 41, 1313-1324.
- [36] Mayer, Lawrence M. *Agregation of colloidal iron during estuarine mixing: Kinetics, mechanism, and seasonality*. Geoch. et Cosm. Acta **1982**, 46, 2527-2535.
- [37] Mayer, Lawrence M. *Retention of riverine iron in estuaries*. Geoch. et Cosm. Acta **1982**, 46, 1003-1009.
- [38] Fox, Lewis E. and Wofsy Steven C. *Kinetics of removal of iron colloids from estuaries*. Geoch. et Cosm. Acta **1983**, 47, 211-216.
- [39] Hem, J.D. *Reactions of metal ions at surfaces of hydrous iron oxide*. Geoch. et Cosm. Acta **1977**, 41, 527-538.
- [40] Sholkovitz and D. Copland. *The coagulation solubility and desorption properties of Fe, Mn, Cu, Ni, Cd, Co and humic acids in a river water*. Geoch. et Cosm. Acta **1981**, 45, 181-189.
- [41] Hoyle, J. H. Elderfield, A. Gledhill and M. Greaves. *The behavior of the rare earth elements during mixing of river and sea waters*. Geoch. et Cosm. Acta **1984**, 48, 143-149.
- [42] Morris, A.W.; Bale, A.J. *Effect of rapid precipitation of dissolved Mn in river water on estuarine Mn distributions*. Nature **1979**, 279, 318-319.
- [43] Diem D.; Stumm, W. *Is dissolved Mn^{2+} being oxidized by O_2 in absence of Mn-bacteria or surface catalysts?* Geoch. et Cosm. Acta **1984**, 48, 1571-1573.
- [44] Sundby, B., Silverberg, N. and Chesselet, R. *Pathways of manganese in an open estuarine system*. Geoch. et Cosm. Acta, **1981**, 44, 293-307.

- [45] Burba, P.; Jakubowski, B.; Kuckuk, R.; Kullmer, K.; Heumann, K. G. *Characterization of aquatic humic substances and their metal complexes by immobilized metal-chelate affinity chromatography on iron(III)-loaded ion exchangers*. *Fresenius J Anal Chem.* **2000**, 368, 7, 689-96.
- [46] Lead, J.R.; Hamilton-Taylor, J.; Davison, W.; Harper, M. *Trace metal sorption by natural particles and coarse colloids*. *Geoch. Cosm. Acta*, **1999**, 63, 1661-1670.
- [47] Rocha, J. C.; Sargentini Jr, É.; Zara, L. F.; Rosa, A. H.; Santos, A.; Burba, P. *Reduction of mercury(II) by tropical river humic substances (Rio Negro) — A possible process of the mercury cycle in Brazil*. *Talanta* **2000**, 53, 551-559.
- [48] Ziechmann, W.; Hubner, M.; Jonassen, K. E. N; Batsberg, W.; Nielsen, T.; Hahner, S.; Hansen, P. E.; Gundmundson, A. L. In: *Humic Substance- Versatile Components Of Plants, Soils and Water*; Ghabbour, E. A.; Davies, G., eds.; Royal Society of Chemistry: Boston, **2000**, p. 9.
- [49] Piccolo, A.; Nardi, S.; Concheri, G. *Comprehensive, quantitative, congener-specific analyses of eight aroclors and complete PCB congener assignments on DB-1 capillary GC columns*. *Chemosphere* **1996**, 33, 602.
- [50] Sargentini Jr., E.; Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; Zara, L. F.; Santos, A. *Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento Molecular e Caracterização de Rearranjos após Complexação com Íons Metálicos*. *Quim. Nova* **2001**, 24, 339.
- [51] Bubert, H.; Lambert, J.; Burba, P. *Structural and elemental investigations of isolated aquatic humic substances using X-ray photoelectron spectroscopy*. *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 368, 274.
- [52] Tavares, M. C. H.; Landgraf, M. D.; Vieira, E. M.; Rezende, M. O. O. *Determinação das Constantes de Adsorção da Trifluralina em Solo e em Ácido Húmico e Análise de IV da Trifluralina e do Ácido Húmico*. *Quim. Nova* **1996**, 19, 605.
- [53] Landgraf, M. D.; Silva, S. C.; Rezende, M. O. O. *Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost.*. *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 368, 155.

- [54] Fukushima, M.; Tanaka, S.; Nakamura, H.; ITO, S. *Acid-base characterization of molecular weight fractionated humic acid*. *Talanta*, **1996**, 43, 383.
- [55] Burba, P.; Rocha, J. C.; Klockow, D. *Labile complexes of trace metals in aquatic humic substances: Investigations by means of an ion exchange-based flow procedure*. *Fresenius J Anal Chem*, **1994**, 349:800-807.
- [56] Rocha, J. C.; Sene, J. J.; Burba, P.; Klockow, D. *Interaction of Mercury(II) with Humic Substances from the Rio Negro (Amazonas State, Brazil) by Means of an Ion Exchange Procedure*. *Braz.Chem. Soc.* **1998**, 9, 79-87.
- [57] Martin, L. N.; Vieira, E. M.; Sposito, G. *Mechanism of Atrazine Sorption by Humic Acid: A Spectroscopic Study*. *Environ. Sci.Technol.* **1994**, 28, 1867-1871.
- [58] Chiavari, G.; Torsi, G.; Fabbri, D.; Galletti, G. C. *Comparative study of humic substances in soil using pyrolytic techniques and other conventional chromatographic methods*. *Analyst* **1994**, 119,1141-1145.
- [59] Pinheiro, J. P.; Mota, A. M.; Gonçalves, M. L. S. *Complexation study of humic acids with cadmium (II) and lead (II)*. *Anal.Chim. Acta* **1994**, 284, 525-529.
- [60] Rocha, J. C.; Toscano, I. A. S.; Burba, P. *Lability of heavy metal species in aquatic humic substances characterized by ion exchange with cellulose phosphate*. *Talanta* **1997**,44, 69-76.
- [61] Aster, B.; Von Bohlen, A.; Burba, P. *Determination of metals and their species in aquatic humic substances by using total-reflection X-ray fluorescence spectrometry*. *Spectrochim. Acta Part B*, **1997**, 52, 1009-1012.
- [62] McCarthy, J. F. *Em Aquatic Humic Substances/Influence on Fate and Treatment of Pollutants*; Suffet, I. MacCarthy, P., eds.; American Chemical Society: Washington, 1989.
- [63] Ninfanteva, T. J.; Shkinev, V. M.; Spivakov, B. Ya. *Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview. Part 2. Evaluation of conditional stability constants by using ultrafiltration*. *Talanta* **1999** 48, 257-532.

- [64] Crespilho, F. N.; Messias, R. A.; Rezende, M. O. O. *Determinação de cobre em aguardente de cana por voltametria cíclica utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com ácidos húmicos*. An. Assoc. Bras. Quím **2002** 51, 63-70.
- [65] Crespilho, F. N.; Airoidi, F. P. S.; Silva, W. T.; Rezende, M. O. O. *Oxidação Eletroquímica do Pentaclorofenol em Eletrodos de Pasta de Carbono Modificado por Ácidos Húmicos*. Resumos do 15º Congresso da Sociedade Ibero-Americana de Eletroquímica, **2002**, Évora, Portugal.
- [66] Crespilho, F. N.; Silva, W. T. L.; Rezende, M. O. O. *Estudo, por Via Eletroquímica, da Interação entre o Herbicida Metribuzin e Ácidos Húmicos de Vermicompostos*. An. Assoc. Bras. Quím **2003**, 52, 58-63.
- [67] Barros, M. C. P.; Paula, J. R.; Rezende, M. O. O. *Caracterização físico-química do ácido húmico de solo de ilha de Cananéia e sua interação com Fe(III), Cu (II) e Cd(II)*. Quim. Nova **1994**, 17, 376-385.
- [68] Gao, K.; Pearce, J.; Jones, J.; Taylor, C. *Interaction between peat, humic acid and aqueous metal ions*. Environ. Geoch. and Health **1999**, 21, 13–26.
- [69] Cancino L.; Neves, R. *Hydrodynamic and sediment suspension modelling in estuarine systems, Part II: Application to the Western Scheldt and Gironde estuaries*. Journal of Marine Systems **1999b**, 22, 117-131
- [70] Cancino, L.; Neves, R.. *Hydrodynamic and sediment suspension modelling in estuarine systems, Part I: Description of the numerical models*. Journal of Marine Systems **1999a**, 22, 105-116
- [71] Silva, J. J. F. *Circulação de Água na Ria de Aveiro: Contribuição para o Estudo da Qualidade da Água*. PhD thesis, Universidade de Aveiro (Portugal), 1994.
- [72] Hall, M.F. Lucas, M.T. Caldeira e A.C. Duarte. *Presença de mercúrio nos sedimentos da Ria de Aveiro*. In: *Jornadas da Ria de Aveiro*, Vol I- Poluição, Ed CMA, 1985, 103-125.
- [73] Castro, O.G., Cortesão, C., Ferreira, A.M. e Vale, C. *Rastreio de organoclorados e metais em peixes entabulados em salinas de Aveiro*. In: *Jornadas da Ria de Aveiro*. Vol 1. Poluição da Ria de Aveiro. Câmara Municipal de Aveiro (ed.), 1985, 137-145.

[74] Ferreira, A.M., Vale, C. Castro, O.G., Cortesão. *Metais pesados e organoclorados em caranguejos da Ria de Aveiro*. In: *Jornadas da Ria de Aveiro*. Vol 1. Poluição da Ria de Aveiro. Câmara Municipal de Aveiro (ed.), 1985, 146-153.

4.1 Considerações Gerais

A instrumentação e as metodologias utilizadas nos experimentos serão descritas detalhadamente em cada capítulo. Há, porém, metodologias e procedimentos experimentais que são comuns entre os diferentes capítulos e foram mantidos no decorrer do trabalho, tornando-se assim conveniente descrevê-los a seguir por questões de praticidade.

4.2 Reagentes

Todos os reagentes empregados foram de qualidade analítica. O gás utilizado foi o Nitrogênio Alphagaz, da Ar Líquido.

4.3 Lavagem e Preparo do Material

Para realizar qualquer tipo de análise, todos os materiais, tais como vidrarias e frascos plásticos em geral, foram adequadamente lavados com uma solução detergente, enxaguados abundantemente com água destilada e depois colocados em ácido nítrico a 25% (v/v), à temperatura ambiente, durante um período de pelo menos 24 horas. Após esse período, os materiais foram mais uma vez enxaguados abundantemente com água destilada e depois passados por água ultra pura Milli Q Plus Modelo 185.

Para esterilizar os materiais utilizados em experimentos microbiológicos, após lavagem adequada descrita acima, eles foram submetidos à exposição em autoclave, marca Uniclave 88, a 121 °C e 1 atm de pressão por um período de 20 minutos. Para esterilizar as células de teflon e o cristal piezoelétrico, utilizou-se uma lâmpada UV, TUV 15, por um período de 12 horas em Câmara de Fluxo Laminar Horizontal SLEE London, L3606. Para esterilizar as soluções, elas foram passadas em filtros de membrana 0,2 µm conforme Cunha [1].

4.4 Arranjo Experimental da Microbalança de Cristal de Quartzo

O arranjo experimental usado nos estudos com MCQ foi basicamente composto de uma célula com o cristal de quartzo, um oscilador, um freqüencímetro e um computador, conforme representado na Figura 4.1.

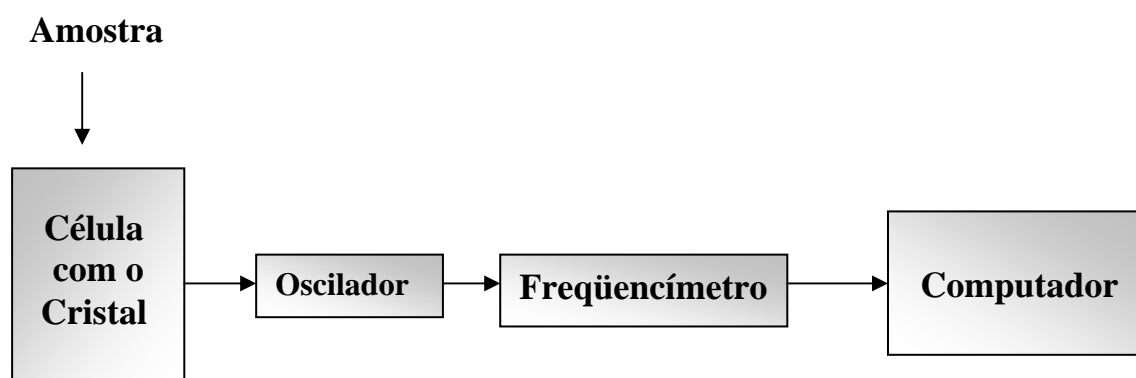


Figura 4.1 Arranjo experimental com MCQ

As células utilizadas para os experimentos discutidos a seguir encontram-se representadas nas Figuras 4.2 e 4.3. A Figura 4.2 mostra uma célula de PVC usada para monitorar o crescimento bacteriano, que será descrito no Capítulo 7. Essa célula contém capacidade volumétrica de 1 mL, com um encaixe que permitiu que uma das faces do cristal estivesse em contato com o meio líquido e a outra em contato com o ar.

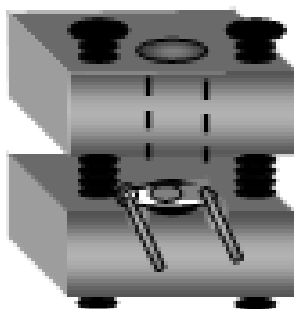


Figura 4.2 Célula de PVC

A Figura 4.3 mostra uma célula termostatzada ligada a um banho com temperatura controlada, na qual realizaram-se os experimentos de adsorção. A célula é constituída por um recipiente de vidro, volume máximo ~ 20 mL, e por um encaixe em teflon onde se encontra acoplado o cristal piezoelétrico. Essa célula permite que se mantenha o líquido a ser analisado a uma temperatura constante, através de circulação de água proveniente do banho marca Selecta, sistema de termostatização Frigiterm 6000382.

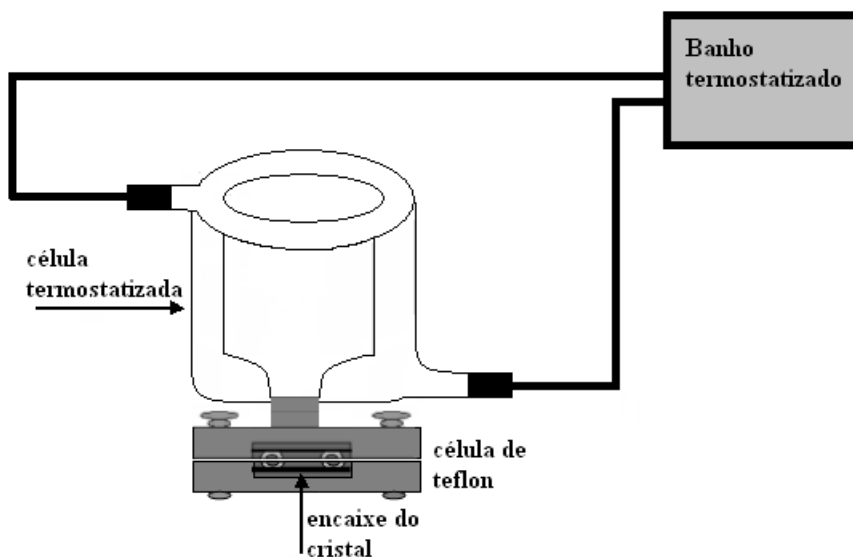


Figura 4.3 Célula Termostatzada

Os cristais utilizados nesses experimentos foram de 9 MHz, não polidos, com corte AT e com um eletrodo de cromo recoberto com ouro (HC6U — International Crystal Manufacturing Co., Inc. 031210), diâmetro 0,511 cm. Esse cristal é acoplado a um circuito oscilador responsável pela aplicação do campo elétrico alternado ao cristal, cujo propósito é provocar uma oscilação no centro do cristal piezoelétrico [2]. Alguns destes cristais foram revestidos com óxidos metálicos e ácido húmico e destinaram-se a estudos de adsorção.

Os osciladores empregados foram da International Crystal Manufacturing Co., Inc., ICM, 35360. Diretamente ligado ao circuito oscilador aparece um contador de frequência (freqüencímetro), responsável pelo monitoramento da frequência de oscilação do cristal.

As frequências de oscilação foram monitoradas por freqüencímetros da marca Philips PM 6680 e Leader LF827, conectados por um cabo GPIB a um computador com

porta GPIB ISA-EISA 82341-D (W95), e os dados foram obtidos em contínuo, com aquisição em intervalos de tempo de 1 s.

4.5 Arranjo Experimental da Microbalança Eletroquímica de Cristais de Quartzo

O arranjo experimental utilizado nos estudos com a Microbalança Eletroquímica de Cristal de Quartzo, EQCN-700-ELCHEMA, encontra-se representado na Figura 4.4.

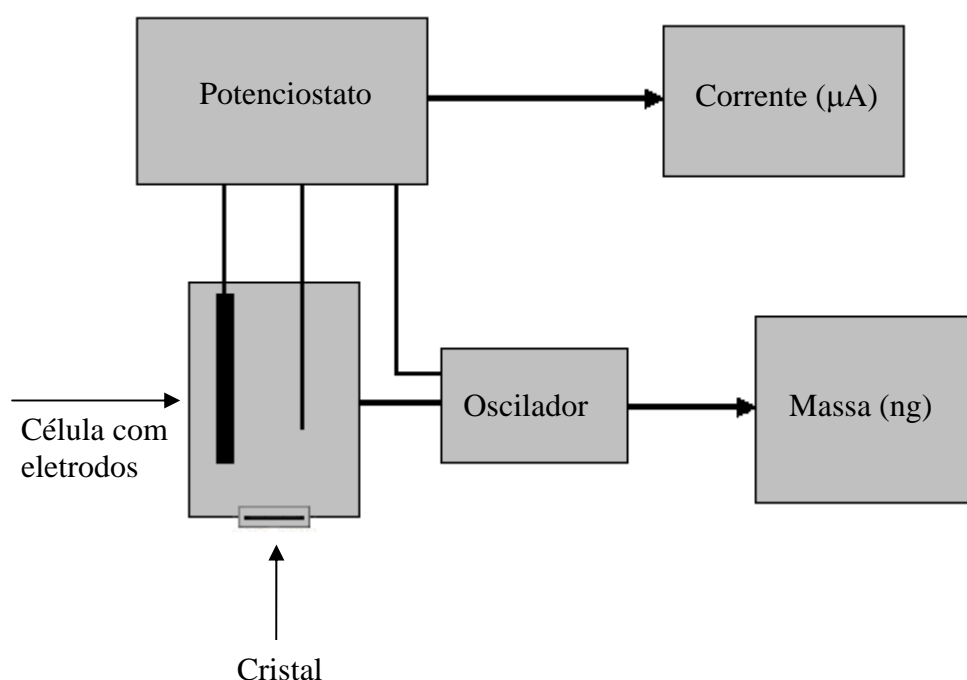


Figura 4.4 Arranjo experimental da MECQ

A célula original do aparelho é de vidro, contendo uma abertura lateral onde é aderido o cristal de quartzo através de um adesivo siliconado. Esse posicionamento do cristal permite que os eletrodos de referência e contra eletrodo mantenham-se o mais próximo possível do eletrodo de trabalho. No entanto, com o tempo começaram a haver problemas com a aderência do cristal à célula, observando-se o descolamento do mesmo quando em presença de soluções ácidas e conseqüentemente o vazamento da solução. Com a continuidade do problema, tornou-se necessária a fabricação de uma nova célula de teflon, com um encaixe para a colocação do cristal piezoelétrico, acoplada a um copo de

vidro, que pode conter entre 10 e 20 mL de solução, ambos fabricados no Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Esta configuração permitiu dispor o cristal entre anéis de viton, com alta resistência química e elasticidade, com diâmetros maiores que a superfície ativa (definida pelo diâmetro do filme metálico depositado) para evitar a produção de tensão mecânica na zona de oscilação do cristal. A Figura 4.5 mostra, em detalhes, a célula eletroquímica contendo o eletrodo de referência, o contra eletrodo e o eletrodo de trabalho. O eletrodo de referência utilizado foi o de Ag/AgCl em KCl saturado, o contra eletrodo foi de Pt e o eletrodo de trabalho foi o cristal piezoelétrico de 10 MHz, corte AT-HC6U (ICM-International Crystal Manufacturing Co., Inc.), com cromo recoberto com ouro (ICM 031210), diâmetro 0,511 cm.

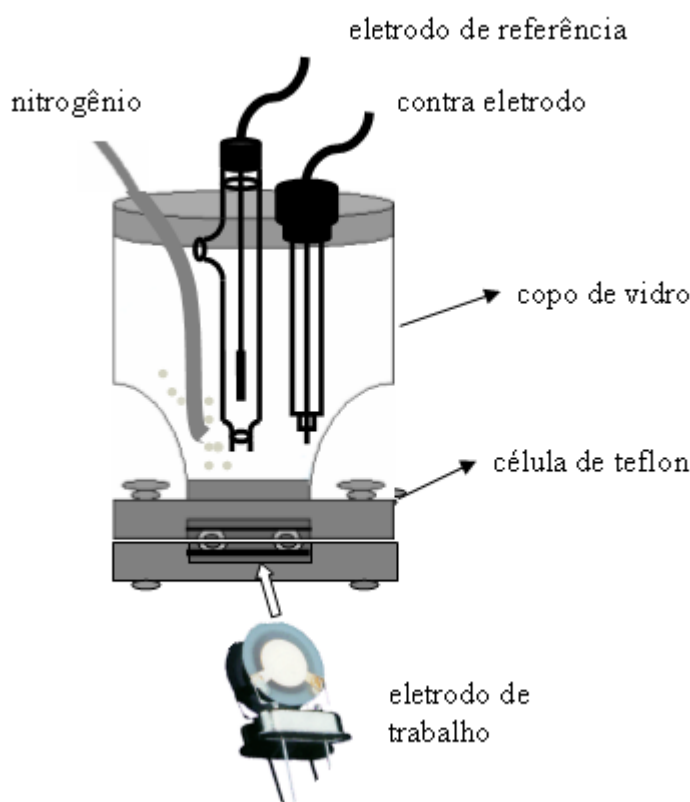


Figura 4.5 Célula eletroquímica com eletrodos

O gás empregado, tanto para desoxigenar o meio como para agitar a solução, foi o N_2 com controle de vazão através de um rotâmetro Cole Parmer a $215 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$.

A microbalança existente no aparelho fornece os valores da massa por meio da diferença de frequência entre o cristal de referência existente no interior do aparelho e o

cristal de leitura. Essa diferença é obtida pelos osciladores que estão acoplados a um freqüencímetro de precisão, tempo de integração de 0,01 s, sendo possível medir variações de 0,01 Hz, cujo valor é convertido para um sinal de voltagem, calibrado para unidades de massa de Sauerbrey.

Para as medidas eletroquímicas, utilizou-se um potenciostato/galvanostato do modelo PS-205 ELCHEMA, com potencial controlado entre -10 e +10 V, o qual oferece baixo ruído e alta precisão. Para obter resultados satisfatórios, é necessário que o experimento decorra conforme alguns requisitos, descritos a seguir:

- (a) Excelente aderência do metal sobre o cristal para a obtenção de medidas reprodutíveis. Cuidados na limpeza do quartzo com substâncias para desgordurar a superfície do metal.
- (b) Somente um dos eletrodos (faces do cristal) deve estar em contato com a solução. Se os dois estiverem em contato com a solução, há perda da oscilação, e somente alguns circuitos são capazes de manter a oscilação nessas condições.
- (c) A presença de bolhas causa variações aleatórias de freqüência que podem induzir interpretações errôneas.
- (d) Para experimentos nos quais é necessário observar variações de freqüência de ressonância muito pequenas (< 5 Hz), é absolutamente imprescindível controlar a temperatura da célula eletroquímica a fim de evitar variações nas propriedades físico-químicas do eletrólito que induziriam variações na freqüência de ressonância.

Para se obterem os dados e confeccionarem os gráficos, tanto para as medidas de massa quanto de corrente, utilizou-se um computador com placa de aquisição de 16 bits, IBM PC/AT, para leituras em Voltscan e processador de dados Master Windows.

Para a obtenção dos gráficos obtidos pelo aparelho, fez-se necessário o desenvolvimento de um programa em BASIC, a fim de converter os dados obtidos em formato ASCII para o formato txt.

4.6 Revestimento dos Cristais Piezoelétricos

Os revestimentos dos cristais piezoelétricos foram realizados para os estudos de adsorção. Nesse caso, revestiu-se apenas uma das faces do cristal, tendo em vista que a outra face esteve sempre em contato com o ar. Para o revestimento com MnO_2 e AH, utilizou-se de uma micropipeta para colocação de uma gota do composto de interesse sobre o cristal. Para proceder ao revestimento do cristal piezoelétrico com goethita sintética, utilizou-se um Spin Coater – Delta 10 BM – AL 200.1 por um período de 5 minutos a uma velocidade de 1000 RPM.

4.7 Referências Bibliográficas

[1] Cunha, M. A. S. D. A. *Bacterioplâncton da Ria de Aveiro: actividade ectoenzimática e metabolismo de monómeros*. Tese de Doutoramento. Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, Portugal, 2001.

[2] O'Sullivan, C. K.; Gilbault, G. G. *Commercial quartz crystal microbalances – theory and applications*. Biosens. Bioelectron. **1999**, *14*, 663.

5.1 A Eletroquímica Aplicada a Soluções de Cu^{2+} e Pb^{2+} Utilizando um Cristal Piezoelétrico de Quartzo.

A eletroquímica estuda fundamentalmente sistemas interfaciais, onde é de importância capital o conhecimento dos fluxos de carga e de massa através da interface eletrodo/solução, o entendimento molecular da relação entre estrutura e natureza físico-química das espécies que participam da reação, e o fenômeno eletroquímico em si; ou seja, como esses parâmetros afetam a transferência de carga. A MECQ tem demonstrado ser uma ferramenta sensível e tem sido utilizada em muitos estudos que envolvem reações eletroquímicas [1,2] que produzem modificações na interface eletrodo/eletrolito [3], o que permite conhecer as variações de massa que ocorrem na superfície do cristal piezoelétrico, por relação da mesma com a variação observada na frequência de oscilação do cristal de quartzo. A relação entre a variação da frequência e a massa depositada no cristal de quartzo é normalmente descrita pela equação de Sauerbrey [4]. Usualmente, as variações de frequência observadas na MECQ decorrem do emprego de técnicas eletroquímicas como a Voltametria Cíclica (VC) e a Voltametria de Redissolução Anódica (VRA).

A voltametria é uma técnica que tem sido muito empregada não só para estudos fundamentais — tais como investigações detalhadas de processos que ocorrem nos eletrodos e seus mecanismos —, como também para a análise de metais traço. A VC é uma técnica eletroquímica bastante difundida para determinar certas espécies químicas, devido a sua simplicidade e facilidade na interpretação dos voltamogramas, vindo a fornecer informações tanto quantitativas como qualitativas sobre as reações na superfície dos eletrodos. Essa versatilidade, combinada com a facilidade de medida, tem resultado num uso extensivo nos campos da química inorgânica e bioquímica.

A VRA permite a determinação de quantidades muito pequenas da espécie em estudo, que é conseguida à custa de uma concentração prévia na qual o íon metálico em solução é reduzido eletroliticamente a um potencial controlado, mais negativo que o potencial de redução da espécie [5,6]. Nessas condições, o íon metálico é depositado em um microeletrodo sólido, ou sob a forma de amálgama com um microeletrodo de mercúrio. Após a pré-concentração, que em geral não é exaustiva mas deve ter a duração necessária para se obter a sensibilidade desejada, desloca-se o potencial anodicamente e medem-se os valores de intensidade de corrente respectivos. A curva de intensidade de corrente em

função do potencial tem a forma de um pico, de forma que o potencial correspondente ao valor máximo dá uma indicação qualitativa da identidade do íon metálico e a sua altura, uma medida quantitativa da concentração da espécie em solução. A VRA tem sido bastante aplicada não só na determinação de metais pesados em amostras ambientais, por conseguir atingir limites de detecção muito baixos, como também na elucidação de estudos sobre especiação química (determinação das concentrações de elementos metálicos nas suas diferentes formas físico-químicas) [7,8,9,10,11,12,13].

Baseado nesses fatos, elaborou-se uma pesquisa que utilizou uma MECQ para estudar o comportamento do Cu^{2+} e do Pb^{2+} em seus processos redox, dando a massa depositada na superfície do cristal piezoelétrico de quartzo informações preciosas. Através da VRA, quantificou-se o cobre em amostras ambientais, água da Ria de Aveiro, tanto na forma dissolvida quanto na matéria particulada.

Foram também realizados estudos de complexação do Pb^{2+} em contato com um complexante natural, AH.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Instrumentação

Para os estudos eletroquímicos, utilizou-se uma MECQ, cujo esquema experimental detalhado encontra-se representado na Figura 5.1. O sistema é constituído de uma célula eletroquímica, uma microbalança de cristal de quartzo, um potenciostato/galvanostato e um computador, os quais já foram citados e discutidos no Capítulo 4.

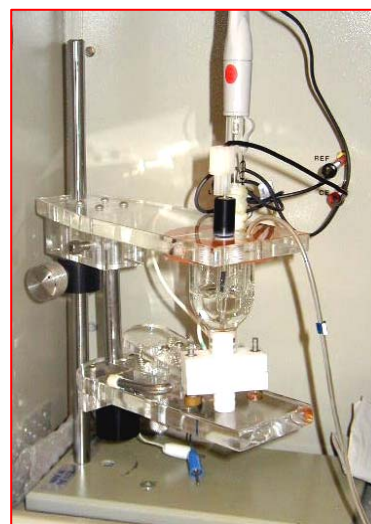


Figura 5.1 Esquema experimental detalhado da MECQ

5.2.2 Reagentes

A solução utilizada para tamponar o meio foi de acetato de sódio (Panreac 131632) em ácido acético glacial (Merck 1.00063.2511), resultando no tampão acetato pH, 4,75 e 6,00.

Os reagentes utilizados para preparar as soluções de Pb^{2+} e Cu^{2+} foram os padrões de Pb^{2+} (Panreac 313189) e Cu^{2+} (Panreac 313178) a 1000 mg L^{-1} .

O complexante natural empregado foi o ácido húmico (Fluka-53680).

Para a limpeza do material usado na etapa de pré-concentração, com exceção do eletrodo de trabalho, utilizou-se HNO_3 (Merck 1.00452.2500) $4,0 \text{ mol L}^{-1}$ e, no enxágüe, água Milli Q, a fim de evitar problemas de contaminação a nível de traços.

5.2.3 Procedimentos

5.2.3.1 Coleta, Acondicionamento e Preservação das Amostras

As amostras de água foram coletadas em 2 pontos transversais do Canal da Barra da Ria de Aveiro, ao Centro (C) e Norte (N), em diferentes horários. No centro do Canal foram coletadas amostras tanto à Superfície (S), quanto ao Fundo (F), enquanto que ao Norte foram coletadas amostras apenas à Superfície (S). Para identificação dos horários das coletas, as amostras foram numeradas por 1, 2 e 3 indicando respectivamente o primeiro, segundo e terceiro horários sendo estes a Baixa-Mar às 9:15 hs da manhã, Meia-Maré às 12:30 hs e Preia-Mar às 15:37 hs no dia 26 de Junho de 2002. Para o dia 4 de Julho do mesmo ano, as coletas foram realizadas iniciando-se pela Meia-Maré às 8:00 hs, Preia-Mar às 10:23 hs e Baixa-Mar às 16:23 hs. As coletas foram realizadas nesses dias porque eram épocas onde ocorriam as Marés Vivas e Mortas respectivamente.

Para a quantificação dos metais, as amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno, devidamente tratados durante 3 horas com uma solução contendo os principais constituintes da amostra (no caso da água do mar, este foi feito com solução de NaCl , KCl , MgCl_2 , CaCl_2 , e Na_2SO_4), com a finalidade de evitar as perdas do metal, em análise, por adsorção [14,15]. Para a determinação da concentração de cobre lábil, dissolvido e na matéria particulada em suspensão, as amostras foram imediatamente filtradas com unidade de filtração, marca Millipore, com filtros de acetato de celulose previamente pesados com $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade [14]. A fração dissolvida foi recolhida em frascos de polietileno, acidificada a $\text{pH} < 2$ com HNO_3 (p.a.) e depois conservada no frigorífico a 4°C até ser submetida à análise. As membranas com as partículas em suspensão foram colocadas em placas de Petri e levadas a secar durante 12 horas a 70°C . Após tal procedimento, as mesmas foram guardadas dentro de um dessecador até serem realizadas as análises.

5.2.3.2 Preparo das Amostras para Análise

Para as análises de cobre lábil, após filtração, descrita no item anterior, as amostras foram tamponadas com ácido acético/acetato de sódio pH 4,75 e submetidas a análise por VRA.

Para as análises de cobre dissolvido, após acondicionamento adequado, as amostras foram tratadas com HNO_3 4 mol L^{-1} , H_2O_2 30 %, colocadas em tubos de quartzo e levadas para irradiação com lâmpada de Hg 500 W por um período de 6 horas. No momento de realizar as análises, as amostras já tratadas foram tamponadas com ácido acético/acetato de sódio pH 4,75.

Para as análises de cobre na matéria particulada, utilizaram-se os filtros pelos quais passaram as amostras, já previamente secos, e submeteram-se os mesmos à digestão ácida. Assim, os filtros foram colocados em bombas de teflon com ácidos concentrados (HCl , HNO_3 , HF na proporção de 3:1:6) [14] e depois de total dissolução da amostra, foram colocados em estufa a 80 $^{\circ}\text{C}$ por 2 horas. Decorrido esse tempo, o volume obtido foi completado com água Milli Q até 25 mL com 5,6 g de H_3BO_3 para neutralização do HF [14], tamponadas com acetato de sódio pH 4,75 e submetidas a análise por VRA.

5.2.4 Técnicas de Análise

5.2.4.1 Voltametria Cíclica

Na VC, os eletrodos de trabalho, referência e contra-eletródo foram imersos em 10 mL de tampão acetato, e adicionaram-se volumes adequados de solução de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ e/ou $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ até se atingirem as concentrações desejadas. Posteriormente, após desoxigenação da solução por um período de 5 minutos, os voltamogramas cíclicos foram registrados com velocidades de varredura de 5, 20 e 70 mV s^{-1} , na faixa de potencial de -800 a 600 mV.

5.2.4.2 Voltametria de Redissolução Anódica

Na VRA, os procedimentos foram análogos aos adotados para a VC, porém, antes de ocorrer a varredura de potencial, o eletrodo de trabalho foi submetido à etapa de pré-concentração do metal a ser analisado, sob agitação em atmosfera de nitrogênio durante 3 minutos, tendo-se sempre o cuidado de interromper a agitação 30 segundos antes de se proceder a varredura. As varreduras foram realizadas na faixa de potencial de -450 a + 600 mV para o caso de só haver Cu^{2+} em solução, e -800 a + 600 mV para o caso de haver Pb^{2+} e Cu^{2+} em solução, à velocidade de 5 mV s^{-1} .

Para o estudo das concentrações de Cu^{2+} existentes na Ria de Aveiro, tanto nas formas lábil e dissolvida quanto na forma particulada, utilizou-se o método de adição de padrão.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Utilização da MECQ para Estudo do Comportamento de Metais em Soluções-Padrão

5.3.1.1 Estudo dos Potenciais de Deposição

Os estudos dos potenciais de deposição dos metais Cu^{2+} e Pb^{2+} foram realizados pelo método da VRA, utilizando-se uma solução tampão acetato pH 4,75. A Tabela 5.1 mostra os valores de corrente para os potenciais de deposição compreendidos entre -50 e -800 mV a uma concentração de 2 mg L^{-1} tanto para Cu^{2+} como para Pb^{2+} . Como se pode observar, caso se analise somente Cu^{2+} , o melhor potencial de deposição a ser adotado deve ser -450 mV, ao passo que, caso se realize uma análise de Pb^{2+} ou de ambos os cátions metálicos, o melhor potencial a ser adotado deve ser -800 mV. Isso se explica ao observarmos os valores obtidos para as intensidades de corrente, pois o melhor potencial a ser adotado é sempre o que possui maior ordem de grandeza para a corrente.

	Cu^{2+}	Pb^{2+}
potencial de deposição (mV)	Corrente (μA)	Corrente (μA)
-50	1,58	-
-100	1,67	-
-150	2,18	-
-250	2,44	-
-350	2,58	-
-450	3,24	-
-500	3,23	-
-600	3,23	2,32
-700	3,23	2,34
-750	3,24	2,33
-800	3,24	2,48

Tabela 5.1 Correntes correspondentes ao Cu^{2+} e ao Pb^{2+} obtidos a diferentes potenciais

5.3.1.2 Tempo de Acumulação

A influência do tempo de acumulação na etapa de pré-concentração para a determinação de metais por VRA é muito importante porque está diretamente relacionada com a sensibilidade do método e com o tempo de análise. O tempo de acumulação depende da concentração e da saturação dos sítios ligantes à superfície do eletrodo. A Tabela 5.2 mostra os tempos de acumulação para os cátions Cu^{2+} , a um potencial de deposição de -450 mV, e Pb^{2+} , a um potencial de -800 mV, em tampão acetato pH 4,75, a uma concentração de 2 mg L^{-1} para cada metal. Conforme se pode observar, o tempo que permitiu acumulação suficiente para um bom sinal analítico foi de 3 minutos, sendo esse portanto, o tempo escolhido para realizar as análises.

	Cu^{2+}	Pb^{2+}
Tempos de acumulação (minutos)	Corrente (μA)	Corrente (μA)
1,0	2,62	1,51
2,0	2,69	1,57
3,0	3,73	2,66
4,0	3,75	2,69
5,0	3,77	2,71
6,0	3,79	2,76
7,0	3,82	2,79
8,0	3,84	2,85
9,0	3,88	2,92
10,0	3,91	2,98

Tabela 5.2 Tempos de acumulação para o Cu^{2+} e Pb^{2+} na etapa de pré-concentração

5.3.1.3 Voltametria Cíclica

A VC foi utilizada para obter informações qualitativas sobre as reações de eletrodo para os metais Cu^{2+} e Pb^{2+} . A Figura 5.2 mostra um voltamograma cíclico correspondente a uma varredura de um branco contendo apenas o eletrólito suporte, tampão acetato pH 4,75, com faixa de potencial de -800 a 600 mV a uma velocidade de 5 mV s^{-1} . Observando-se as correntes residuais desse eletrodo no voltamograma (Figura 5.2a), nota-se que elas são praticamente zero e que não há espécie eletroativa na solução. O mesmo pode ser observado para a massa depositada na superfície do eletrodo (Figura 5.2b), onde a massa sempre permanece muito próxima de zero. Essa varredura em branco é denominada condicionamento de superfície, [16,17], e faz-se necessária sempre antes de se realizar qualquer experimento para eliminar qualquer possibilidade de contaminação e preparar o eletrodo para respostas mais reprodutíveis.

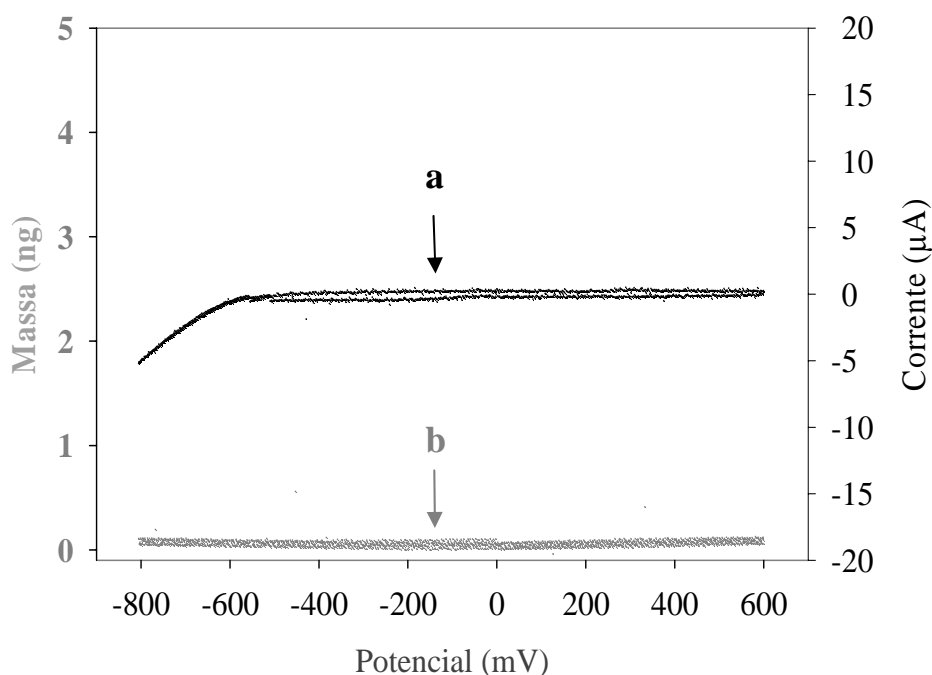


Figura 5.2 VC obtido com tampão acetato pH 4,75, 5 mVs^{-1} . (a) corrente, (b) massa

A Figura 5.3 mostra um voltamograma cíclico do mesmo eletrólito a pH 4,75, com o Pb^{2+} na concentração de $85,10 \text{ mg L}^{-1}$ e Cu^{2+} na concentração de $63,82 \text{ mg L}^{-1}$, com varredura linear de potencial entre 600 mV e -800 mV, a uma velocidade de 5 mV s^{-1} . Iniciando-se a varredura do potencial em 0 mV e caminhando-se para potenciais negativos, observa-se a formação de um pico catódico em torno de -150 mV, que é atribuído à redução do Cu^{2+} . Esse fenômeno também pode ser observado através da massa depositada na superfície do cristal, na mesma região de potencial. Para o Pb^{2+} , observa-se que seu potencial de deposição é em torno de -490 mV através da formação de um pico de redução nessa região. O mesmo fenômeno pode ser observado com o acréscimo de massa no cristal devido a uma mudança no declive, indicando o início do processo de deposição do chumbo. Após esse período, nota-se que a taxa de deposição de massa permanece constante mesmo após o início do processo de reversão de potencial para as zonas positivas e até que o potencial de oxidação do Pb seja atingido. Esse processo de oxidação pode ser observado por meio da perda da massa depositada no cristal para ambos os metais e pela limpeza total da superfície do eletrodo ao atingir o valor zero.

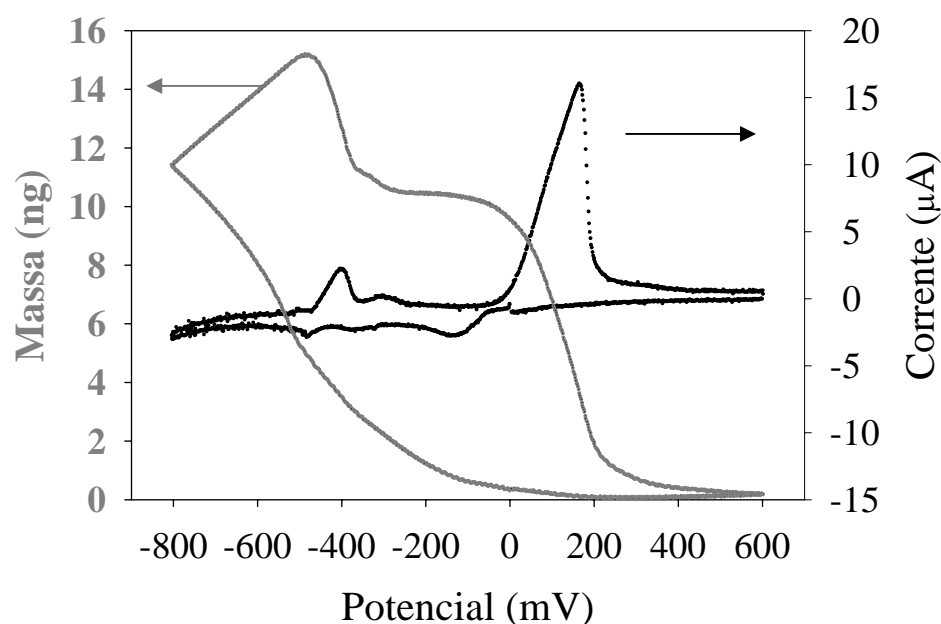


Figura 5.3 VC de uma solução de Cu^{2+} $63,82 \text{ mg L}^{-1}$ e Pb^{2+} $85,10 \text{ mg L}^{-1}$, pH = 4,75

A Figura 5.4 mostra o voltamograma cíclico obtido nas mesmas condições experimentais, porém com a mudança do pH de 4,75 para 6,00. Pode-se verificar que os voltamogramas obtidos possuem características muito semelhantes, porém com pequenas variações que podem ser observadas nos potenciais e na intensidade de corrente dos picos catódicos. O mesmo não ocorre na massa depositada na superfície do cristal piezoelétrico, pois observando-se as duas figuras, constata-se que ambas permanecem exatamente iguais e não sofrem quaisquer variações e nenhum tipo de perturbação. Esse fato só demonstra a clara vantagem de se monitorar a massa em conjunto com a corrente.

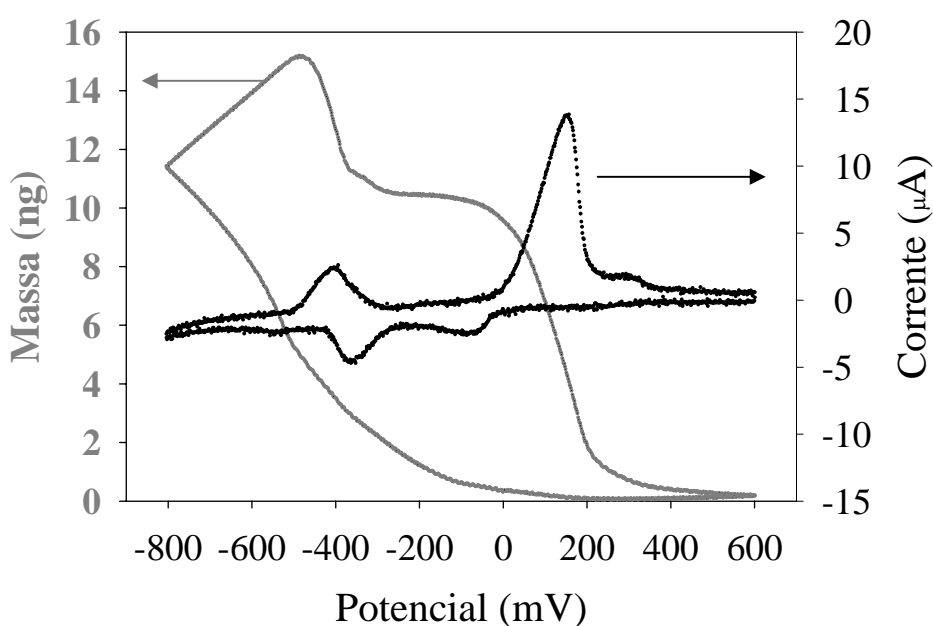


Figura 5.4 VC de uma solução de Cu^{2+} 63,82 mg L^{-1} e Pb^{2+} 85,10 mg L^{-1} , pH = 6,00

5.3.1.4 Voltametria de Redissolução Anódica

A VRA foi utilizada para se analisarem metais a nível de traços. No primeiro passo fez-se a pré-concentração dos cátions Pb e Cu por meio de uma redução. Durante a deposição catódica, admite-se que se mantenha um valor constante para a intensidade de corrente, o qual é conseguido com agitação constante e quando a concentração no interior da solução não varia consideravelmente durante o decorrer da eletrodeposição [6,15]. A Figura 5.5 mostra o resultado obtido por um voltamograma de redissolução anódica mediante uma etapa de pré-concentração durante 3 minutos, a uma vazão de nitrogênio

rigorosamente controlada a $215 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Após essa etapa, e com o cuidado de parar o processo de agitação 30 s antes, os metais em estudo sofreram oxidação partindo de um potencial de -800V até o potencial de 600 mV, passando de suas formas reduzidas para as oxidadas nas formas Pb^{2+} e Cu^{2+} . O primeiro pico formado corresponde à oxidação do Pb e o segundo corresponde à oxidação do Cu.

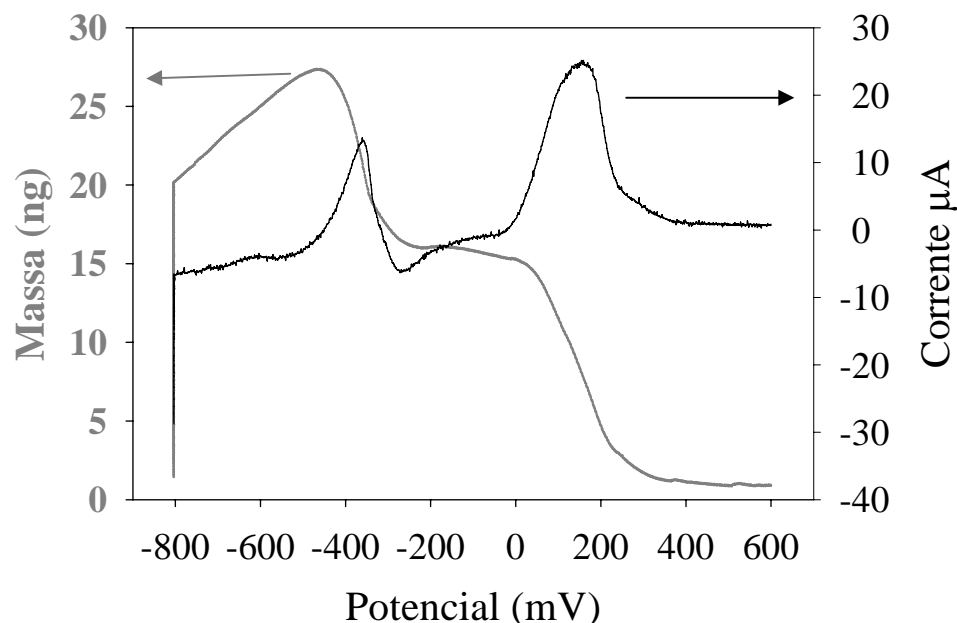


Figura 5.5 VRA de uma solução de Cu^{2+} $63,82 \text{ mg L}^{-1}$ e Pb^{2+} $85,10 \text{ mg L}^{-1}$ a 5 mV s^{-1}

5.3.1.5 Adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} na Superfície do Cristal Piezoelétrico

5.3.1.5.1 Adsorção na Ausência de Potencial Aplicado

Estudos de adsorção dos cátions Cu e Pb foram realizados por meio da deposição da massa na superfície do cristal piezoelétrico a um potencial 0 mV. Para isso, colocou-se o cristal em contato com o metal a ser analisado durante 30 minutos, e registrou-se a massa depositada ao longo do tempo. As Figuras 5.6 (a) e (b) mostram os resultados desses estudos para os metais Cu^{2+} e Pb^{2+} em solução tampão acetato pH 4,75. Como se pode observar, tanto na Figura 5.6 (a), onde o eletrodo esteve em contato com o Cu^{2+} , como na Figura 5.6 (b), onde o eletrodo esteve em contato com o Pb^{2+} , constata-se que ocorreu

acréscimo de massa para os dois metais, mesmo estando ambos submetidos ao potencial de deposição nulo.

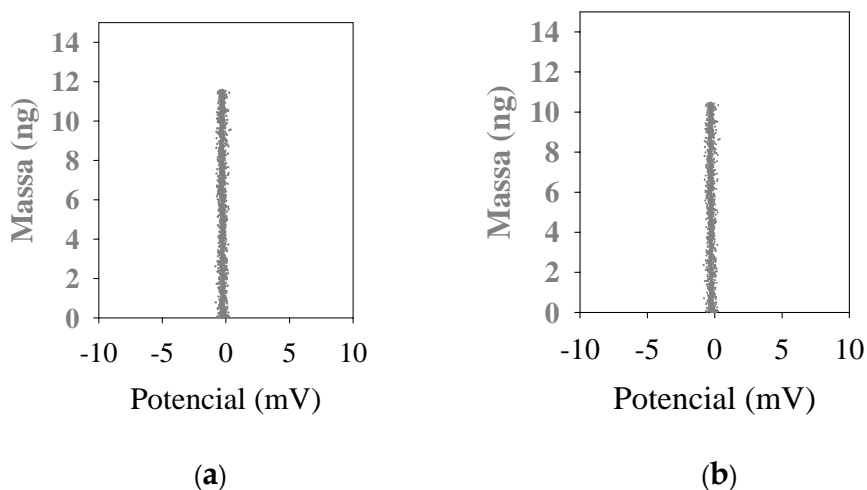


Figura 5.6 Massa depositada no cristal piezoelétrico (a) Cu^{2+} 85,10 mg L^{-1} , (b) Pb^{2+} 85,10 mg L^{-1}

Após o processo, que se supôs ser de adsorção, o eletrodo de ouro já com a camada de adsorvato específica foi inserido em uma solução de tampão acetato pH 4,75 — onde nenhum metal estava presente em solução, a não ser o que se pensou que estivesse adsorvido na superfície do eletrodo — e submetido ao processo de voltametria cíclica de -450 mV a 600 mV para o Cu^{2+} e -800 mV a 600 mV para o Pb^{2+} , conforme mostrado nas Figuras 5.7 e 5.8.

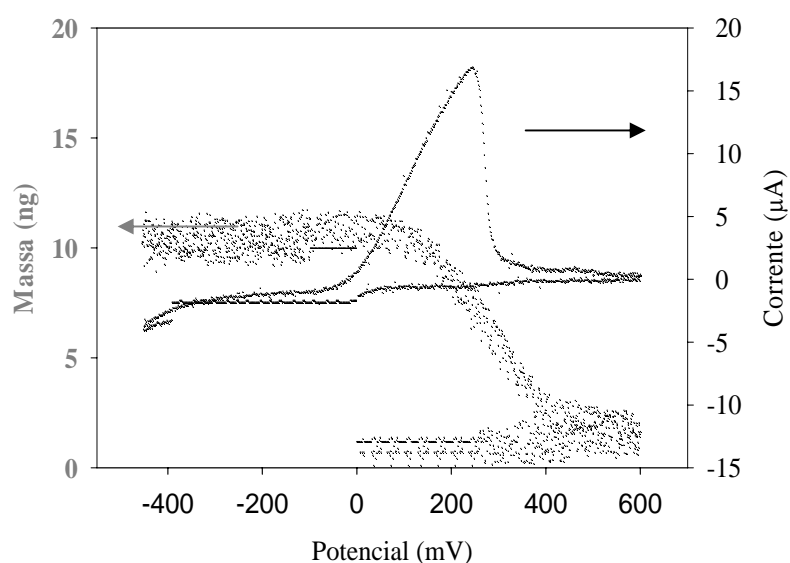


Figura 5.7 VC de uma solução tampão acetato com Cu^{2+} adsorvido no cristal de quartzo

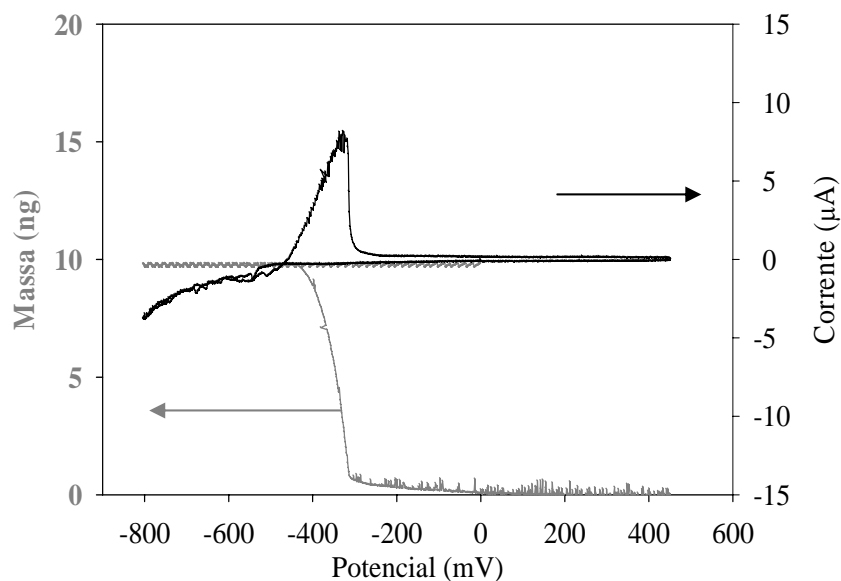


Figura 5.8 VC de uma solução tampão acetato com Pb^{2+} adsorvido no cristal de quartzo

Observando-se tanto a Figura 5.7 como a 5.8, nota-se que a massa depositada no início da varredura de potencial, 0 mV, é condizente com a massa depositada no início do experimento, podendo ser observadas nas Figuras 5.6 (a) e (b). Ou seja, permaneceram na ordem de 11 ng e, ao sofrerem o processo de oxidação, passaram a valor zero, promovendo o processo de limpeza total do eletrodo. Esses processos se deram aos potenciais onde ocorrem as reduções do cobre e do chumbo, o que levou a concluir que não se tratava da adsorção do íon metálico ou de quaisquer complexos do mesmo, mas sim da redução do íon metálico que terá ocorrido espontaneamente por ação do pequeno potencial originado pelo oscilador. Após os resultados acima expostos e com base em estudos realizados até então, pode-se concluir que os metais Cu^{2+} e Pb^{2+} sofreram processo de redução espontânea sobre o eletrodo de ouro, mesmo quando submetidos à etapa de pré-concentração ao potencial de deposição de 0 mV.

5.3.1.5.2 Estudo da Deposição de Metais em Subtensão

A deposição de metais em regime de subtensão, que envolve a formação de mono ou sub camadas de átomos adsorvidos (ad-átomos) em diferentes substratos é caracterizada por ocorrer em potenciais menos catódicos que o potencial de deposição reversível do íon

metálico sobre um substrato de mesma natureza. Este fenômeno é consequência da diferença de potenciais químicos entre ad-átomos e átomos do metal do substrato que, por sua vez, está relacionada com a diferença entre as funções trabalho do ad-átomo e do substrato [18].

A MECQ tem sido largamente utilizada não só para estudos dos processos no eletrodo acompanhados de troca de massa, como também para analisar processos de adsorção de ânions e outras espécies não eletroativas, que podem inibir ou mesmo promover a deposição em subtensão [1,19,20]. Graças à alta sensibilidade na determinação da massa *in situ*, durante a eletrodeposição de metais, Wagner *et al*, Bonfil *et al* e Melroy *et al* [21,22,23,24], estudaram a eletrodeposição de Pb, Bi, Cu e Cd em subtensão.

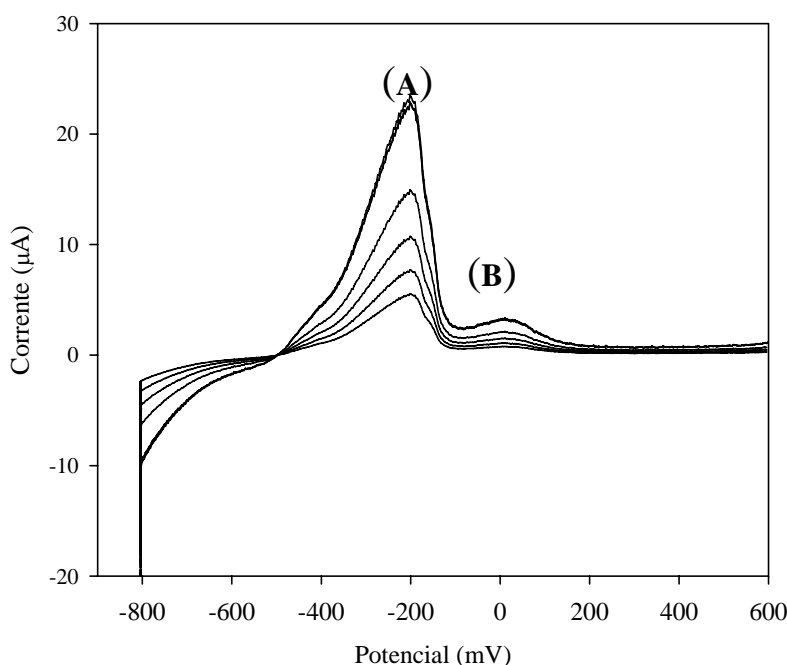


Figura 5.9 VRA de uma solução de Pb^{2+} com $20,00 \text{ mg L}^{-1}$ em vários períodos de acumulação

A figura 5.9 mostra os resultados da VRA de uma solução Pb^{2+} a $20,00 \text{ mg L}^{-1}$, em vários períodos de acumulação, onde pode ser verificada a presença de dois picos de dissolução de Pb (**A**) e (**B**), sendo que o primeiro pico está relacionado com o depósito maciço do metal em questão, enquanto que o segundo é devido ao depósito em subtensão. Na representação gráfica da intensidade de corrente com o potencial de varredura observa-se que na região de potenciais, relativa aos dois picos **A** e **B**, existem duas curvas com inclinações distintas. A primeira curva que possui uma inclinação maior, é relacionada ao

pico **A** (dissolução do Pb maciço) enquanto que a segunda está relacionada ao processo de deposição em subtensão (pico **B**). Períodos de pré-concentração maiores provocam um aumento linear na intensidade de corrente do pico **A**, que corresponde à dissolução do metal depositado sobre uma camada de Pb inicial. O segundo pico, associado ao processo de deposição em subtensão, não aumenta linearmente com a quantidade de chumbo depositada e vai corresponder à dissolução da camada ligada diretamente ao eletrodo de ouro.

A voltametria cíclica é a técnica mais comumente utilizada para promover e analisar a deposição em subtensão. No entanto, a sobreposição de processos superficiais relacionados ao substrato, tais como a formação e redução de óxidos superficiais, pode muitas vezes, limitar a análise do processo.

A velocidade de varredura é provavelmente o parâmetro experimental mais importante a ser considerado na voltametria para diferenciar os efeitos decorrentes do reagente adsorvido e aqueles decorrentes do material que chega ao eletrodo, controlado pela difusão [25]. A Figura 5.10 mostra três voltamogramas cíclicos de uma solução de Cu^{2+} 85,10 mg L^{-1} e Pb^{2+} 85,10 mg L^{-1} a velocidades de varredura de potencial de 5 mV s^{-1} , 20 mV s^{-1} e 70 mV s^{-1} .

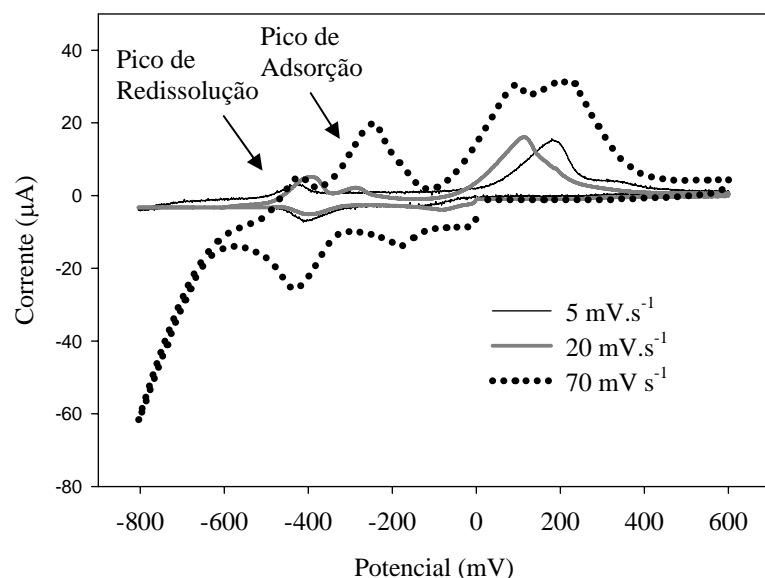


Figura 5.10 VC de uma solução de Cu^{2+} 85,10 mg L^{-1} e Pb^{2+} 85,10 mg L^{-1} a 5, 20 e 70 mV s^{-1}

Observando-se os voltamogramas obtidos, nota-se que para valores muito baixos de velocidade de varredura, 5 mV s^{-1} , a resposta da adsorção não aparece; à medida que a velocidade aumenta, o pico correspondente à adsorção aumenta em relação à resposta controlada pela difusão, até que para velocidades mais altas, 70 mV s^{-1} , só se nota o pico de adsorção.

A corrente de difusão é diretamente proporcional à concentração da substância que vai oxidar-se e ocorre devido à oxidação dos íons ou moléculas que atingem a superfície do eletrodo por difusão, devido a existência de um gradiente de concentração em torno do eletrodo [15]. Assim, a variação das grandezas relativas das respostas com a velocidade de varredura de potencial dá-se de tal modo que o processo de difusão predomina a baixas velocidades de varredura e o de adsorção a velocidades elevadas [15]. A resposta com o aumento da velocidade de varredura deve aumentar para a adsorção em relação ao processo controlado pela difusão. Como esse comportamento é único, um aumento significativo na corrente para uma varredura de potencial mais rápida é forte indicação de adsorção fraca [15].

A Figura 5.11 mostra as variações da massa depositada na superfície do cristal piezoelétrico de quartzo com uma solução de Cu^{2+} e Pb^{2+} , durante o experimento realizado anteriormente.

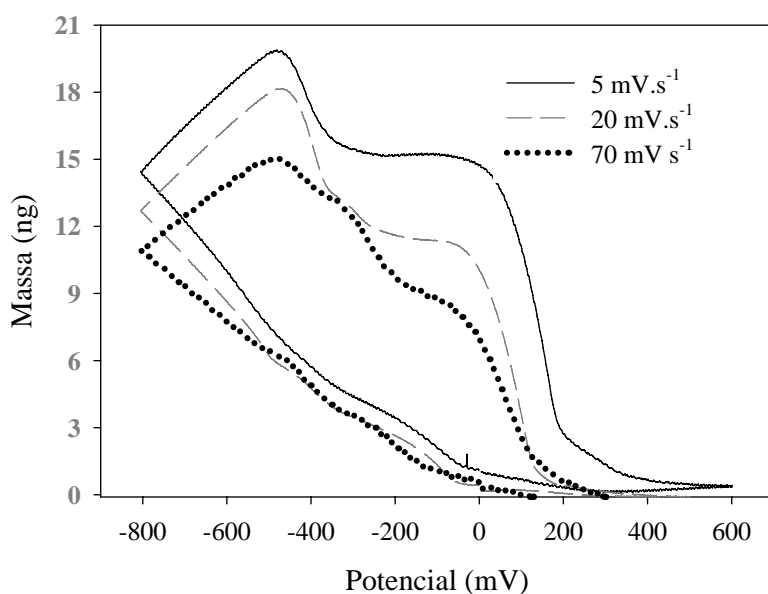


Figura 5.11 Massa depositada no cristal de quartzo com solução de Cu^{2+} $85,10 \text{ mg L}^{-1}$ e Pb^{2+} $85,10 \text{ mg L}^{-1}$ a 5 , 20 e 70 mV s^{-1}

Observando-se a figura, nota-se que quanto menor for a velocidade de varredura, maior é a quantidade de massa depositada na superfície do eletrodo. Essa variação pode ser explicada pelo fato de que, quando a velocidade é elevada, o tempo para o metal depositar na superfície do eletrodo é menor, havendo nesse caso muitos cátions em solução que não alcançaram a superfície do eletrodo para sofrer o processo de redução.

A fim de confirmar o que foi dito anteriormente, a Tabela 5.3 apresenta os valores dos máximos de intensidade de corrente de redissolução obtidos para os picos de adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} , tampão acetato pH 4,75, a velocidades de varredura variando entre 10 e 100 mV s^{-1} em intervalos de 10 mV com tempo de deposição de 3 minutos.

	Cu^{2+}	Pb^{2+}
velocidade de varredura (mV s^{-1})	Corrente de Redissolução (μA)	Corrente de Redissolução (μA)
10	1.5	1,0
20	2.7	2.1
30	3.6	2,9
40	4.5	3,4
50	7.4	6.4
60	8.2	7.5
70	9.1	8.6
80	10.2	9.8
90	11.4	11.1
100	12.3	12.1

Tabela 5.3 Correntes de redissolução para Cu^{2+} e Pb^{2+} obtidos após muitas velocidades de varredura

Como se pode observar, à medida que há aumento na velocidade de varredura, ocorre um acréscimo nos valores de intensidade de corrente do pico de adsorção, tanto para Cu^{2+} como para Pb^{2+} . O aumento nas intensidades de corrente anódicas com a velocidade de varredura é forte indicação da existência de processos de adsorção fraca [15], o que vem confirmar mais uma vez os estudos realizados até agora. Com o propósito de relacionar o acréscimo de corrente com a velocidade, calculou-se a correlação entre intensidade de corrente (i) e velocidade de varredura (v), e encontraram-se valores de $i = 0,096 v + 2,633$ ($r^2 = 0,998$) para Cu^{2+} e $i = 0,104 v + 1,473$ ($r^2 = 0,996$) para Pb^{2+} . A proporcionalidade verificada entre a intensidade de corrente e a velocidade de varredura, para esses picos que

aparecem em potenciais mais anódicos, podem ser explicados pela adsorção do metal na superfície do eletrodo [6,24,25].

Outro fator a ser considerado é que à medida que a concentração do reagente aumenta, maior fração da resposta total se dá através do controle da difusão [15]. A variação no comportamento de um mecanismo predominantemente controlado pela adsorção, para um controlado pela difusão, pode necessitar de várias ordens de grandeza na concentração, pelo que primeiro deve-se verificar a variação da resposta com a velocidade de varredura e confirmar o comportamento a várias concentrações. A Fig 5.12 mostra uma VRA de uma solução de Cu^{2+} e Pb^{2+} com $35,00 \text{ mg L}^{-1}$ e $90,00 \text{ mg L}^{-1}$, para cada cátion, a uma velocidade de varredura de 5 mV s^{-1} .

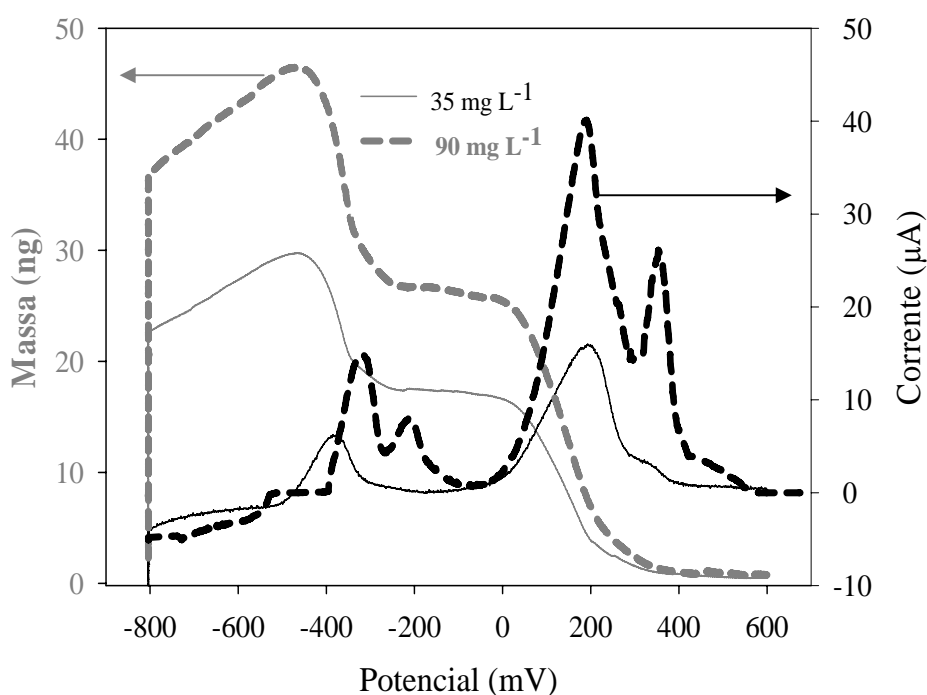


Figura 5.12 VRA de uma solução de Cu^{2+} e Pb^{2+} com $35,00 \text{ mg L}^{-1}$ e $90,00 \text{ mg L}^{-1}$ a 5 mV s^{-1}

Observando-se o gráfico da corrente, para a concentração de $35,00 \text{ mg L}^{-1}$, e comparando-o com o gráfico da intensidade de corrente obtida para a concentração de $90,00 \text{ mg L}^{-1}$, constata-se a formação de picos adicionais que podem ser justificados pela presença de adsorção.

5.3.1.6 Estudos de Complexação do Pb^{2+} com Ácidos Húmicos

Para uma maior elucidação dos processos de adsorção que podem ocorrer na superfície do cristal piezoelétrico de quartzo recoberto com ouro, foram realizados estudos com o Pb^{2+} em contato com o ácido húmico, por se tratar de ser um complexante natural existente no meio ambiente e de possuir uma maior afinidade com o metal em questão [26,27,28]. A figura 5.13 mostra a VRA de uma solução de Pb^{2+} , a $85,10 \text{ mg L}^{-1}$, com e sem ácido húmico, em tampão acetato pH 4,75.

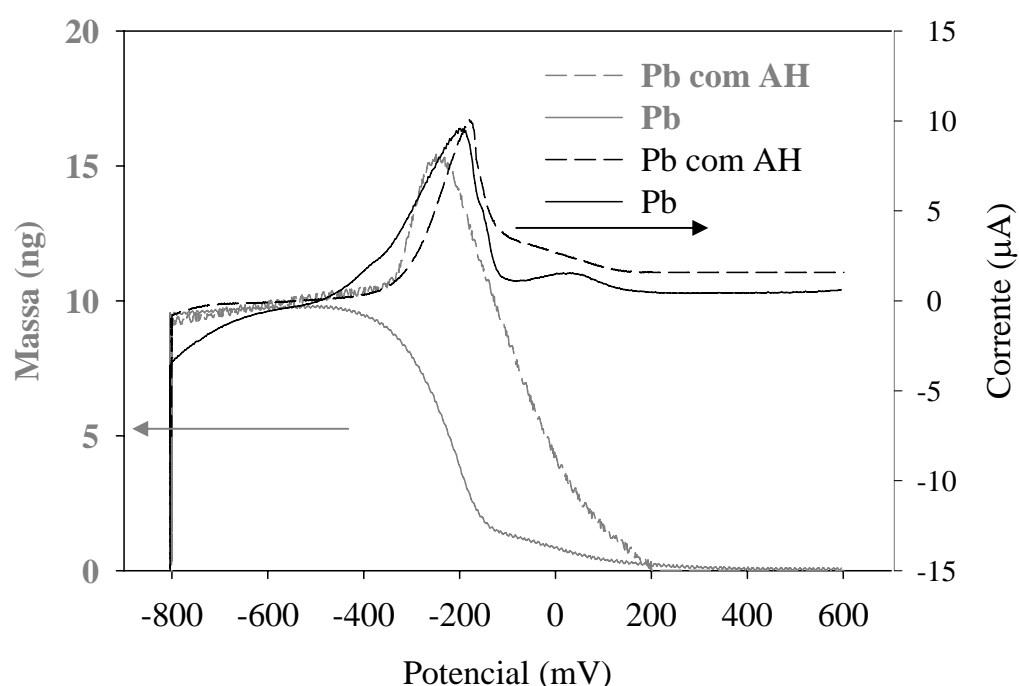


Figura 5.13 VRA de uma solução de Pb^{2+} com e sem ácido húmico, em tampão acetato pH 4,75.

Como pode-se observar, após o processo de acumulação do metal na superfície do eletrodo, começa a haver o processo de redissolução do Pb para a solução através da formação de um pico de corrente na região de -200 mV. O mesmo fenômeno pode ser observado no sinal da massa, com o decréscimo da mesma. Quando os experimentos foram realizados em presença do ácido húmico, observa-se um fenômeno diferente que pode ser caracterizado pela formação de um pico no sinal da massa depositada na superfície do eletrodo. Isso pode ser explicado pois logo que o Pb^{2+} começa a se formar, começa haver o processo de complexação pelo ácido húmico, daí a ocorrência de acréscimo de massa na

superfície do eletrodo. Esse processo só é visto porque provavelmente a formação do complexo é um processo rápido, enquanto que o processo de difusão do Pb^{2+} para o interior da solução é mais lento.

5.3.2 Utilização da MECQ para Determinação de Metais em Amostras Reais

5.3.2.1 Teores de Cobre Encontrados nas Amostras de Água da Ria de Aveiro

Os teores de Cobre, dissolvido e particulado, encontrados nas amostras de água da Ria de Aveiro foram determinados pela técnica da VRA, método de adição de padrão.

As figuras 5.14(a) e (b) mostram os teores do Cu^{2+} , tanto na forma dissolvida, com valores variando entre 4,11 e 5,06 $\mu\text{g L}^{-1}$, como na matéria particulada, com valores variando entre 3,32 e 4,96 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os valores das incertezas não ultrapassaram os 5,2 % para o Cu^{2+} na forma dissolvida e 6,1 % para o Cu^{2+} na matéria particulada, a um grau de confiança de 95%. Os resultados obtidos foram relacionados com a salinidade em Kg m^{-3} [29]

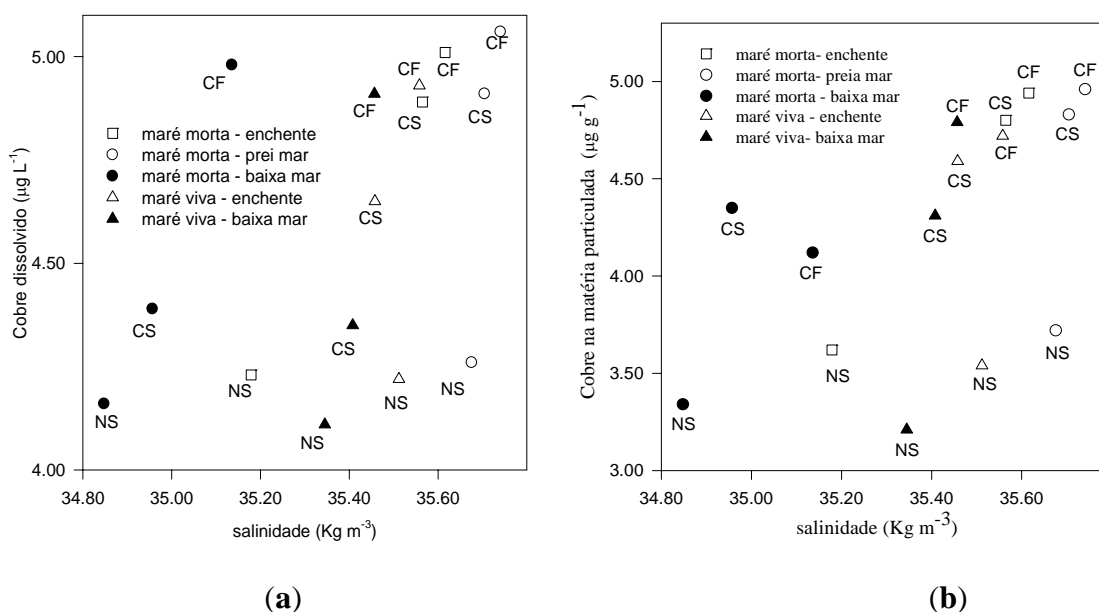


Figura 5.14: Cu dissolvido (a) e cobre na matéria particulada (b)
(NS: Norte Superfície; CS: Centro Superfície; CF: Centro Fundo)

Observando-se as figuras, nota-se que a salinidade aumenta sempre da superfície para o fundo e, conseqüentemente, a concentração de cobre na água. Este aumento pode estar relacionado com uma diminuição na adsorção do cobre e a liberação do mesmo do sedimento e material particulado. De fato, o conteúdo de cobre contido no material particulado no centro do canal, período de baixa-mar e maré morta, diminui da superfície para o fundo. Porém, nos períodos de enchente e preia-mar da maré morta, as concentrações de Cu tanto na forma particulada como dissolvida sempre aumenta com a salinidade da superfície para o fundo. Este comportamento pode ser explicado pelo fato de que com a turbulência da água, poderá haver um processo de erosão dos sedimentos e conseqüentemente haver a ressuspensão do metal.

O efeito de força iônica na sorção de metais, com variações de salinidade dos estuários em zonas de misturas de águas, já foi descrito por outros autores [30]. Foi sugerido que o cálcio e o magnésio competem com os metais para adsorção. Outra explicação, ou um processo complementar, é a formação de clorocomplexos em altas salinidades, que compete com os processos de adsorção [31]. Esta mesma explicação pode ser aplicada ao aumento de cobre dissolvido com a salinidade na superfície, indo do Norte para o centro do canal. O metal na forma particulada não se comporta como o esperado por estas teorias, e não diminui com a salinidade, exceto para o caso que já foi discutido na maré morta, baixa-mar e ao centro do canal, devido à turbulência forte. Os baixos conteúdos de metal na forma particulada, encontrados na superfície Norte do canal, podem ser explicados pelo fato de que a força dos fluxos de água é muito menor nessa região. Os dados da velocidade máxima da água que vem da entrada do canal mostram fluxos com valores mínimos de velocidade de 0 m s^{-1} com vazão de $0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ em maré morta e baixa-mar, $1,11 \text{ m s}^{-1}$ e $3306 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ durante enchente e $0,43 \text{ m s}^{-1}$ e $797 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ em preia-mar. Em maré viva, valores de $0,23 \text{ m s}^{-1}$ e $2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ foram encontrados na baixa-mar, $1,01 \text{ m s}^{-1}$ e $3481 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ durante a enchente e $1,32 \text{ m s}^{-1}$ e $4310 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ em preia-mar.

As concentrações de cobre são mais elevadas no fundo, tanto em água como no material particulado, o que é consistente com a presença de uma fonte de metal importante nos sedimentos, ou com uma entrada de cobre que vem do oceano, resultando em água com salinidade alta. Embora não tão comum, há realmente estuários que importam sedimentos do oceano [31,32]. Análises de Cu lábil e Pb, total e lábil, foram também

realizadas porém não alcançaram o limite de detecção do método que é de $1,46 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Cu^{2+} e $1,79 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Pb^{2+} .

O pH e o oxigênio dissolvido também podem representar um papel importante no transporte de metais pela formação de hidróxidos, carbonatos e outros precipitados metálicos. O pH da água analisada variou de 8,57 a 8,68 e o oxigênio dissolvido é mais alto em baixa-mar e varia de $5,86 \text{ mL L}^{-1}$ para $5,99 \text{ mL L}^{-1}$ do fundo, no centro do canal, para a superfície.

5.4 Conclusões

Com base nos estudos realizados pode-se concluir que a eletroquímica é uma técnica que permite não só identificar e quantificar os metais presentes em análise, como também identificar fenômenos de adsorção que venham a ocorrer na superfície do eletrodo.

A MECQ é um equipamento que permite não só realizar estudos de eletroquímica, como também acompanhar os fenômenos de deposição da massa na superfície do eletrodo.

A MECQ permitiu analisar o cobre dissolvido e na matéria particulada no canal de navegação da Ria de Aveiro, tendo-se obtido valores que diferem com as marés e a profundidade em que as amostras foram coletadas. Os valores máximos obtidos para Cu dissolvido foram de $5,06 \mu\text{g L}^{-1}$ e na matéria particulada foram de $4,96 \mu\text{g g}^{-1}$. Esses valores foram encontrados no período de Maré Morta, Preia-Mar, no centro e ao fundo, do canal.

5.5 Referências Bibliográficas

- [1] Deakin, M.R.; Buttry D.A. *Electrochemical applications of the quartz crystal microbalance*. Anal. Chem., **1989**, A 61, 1147-1154.
- [2] Zilberman, G. *On The Structure of the Metal/Solution Interface -An EQCM Study*. PhD Thesis. School of Chemistry Raymond and Beverly Sackler Faculty of Exact Sciences Tel Aviv University, 2001.
- [3] Lim, Y.; Hwang, E. *An electrochemical quartz crystal microbalance study of oxygen reduction during the underpotential deposition of lead on a gold electrode*. Bull of the Korean Chem. Soc. **1996**, 17, 12.
- [4] Sauerbrey, G. *Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung*. Physik **1959**, 155, 206-222.
- [5] Wang, J., *Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications*, VCH Publishers, Deerfields Beach, 1985.
- [6] Bard Allen J.; Faulkner Larry R. *Electrochemical methods fundamentals and applications*, 2nd ed; Wiley & Sons: New York, 2001.
- [7] Scarano, G.; Morelli, E.; Seritti, A.; Zirino A. *Determination of Copper in Seawater by Anodic Stripping Voltametry using Ethylenediamine*. Anal. Chem. **1990**, 62, 943-948.
- [8] Achterberg, E. P.; Braungardt. *Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters*. Anal. Chim. Acta **1999**, 400, 381-397.
- [9] Desmond, D.; Lane, B.; Alderman, J.; Hill, M. Arrigan, D.W.M.; Glennon J. D. *An environmental monitoring system for trace metals using stripping voltammetry*. Sensors and Actuators B. **1998**, 48, 409-414.
- [10] Riso, R. D.; Corre, P.; Chaumery C. J. *Rapid and simultaneous analysis of trace metals (Cu, Pb and Cd) in seawater by potentiometric stripping analysis*. Anal Chim. Acta **1997**, 351, 83-89.

- [11] Bott, A. W. *Voltametric determination of trace concentrations of metals in the environment*. Current Separations **1995**, 14, 1.
- [12] Florence, T.M.; Mann, K. J. *Anodic Stripping Voltammetry with medium exchange in trace element speciation*. Anal. Chim. Acta **1987**, 200, 305-312.
- [13] Florence, T.M. *Electrochemical Approaches to trace element speciation in waters. A review*. Analyst **1986**, 111, 489-505.
- [14] Rantala R.T.T. and Loring D.H. *Multi-element analysis of silicate rocks and marine sediments by atomic absorption Spectrophotometry*. At. Absorption Newslett **1975**, **14**, 117-120.
- [15] Gonçalves M. L. S. S. *Métodos Instrumentais para Análise de Soluções. Análise Quantitativa*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 4ª edição, 2001.
- [16] Silva, S. M.; Alves, C. R.; Correia, A. N.; Martins, R. M.; Nobre, A. L. R.; Machado, S. A. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A. *Ultramicroeletrodos. Parte II: Construção e Aplicações*. Química Nova **1998**, 21, 1-8.
- [17] Carmo D. R.; Silva, R. M.; Stradiotto N. R. *Estudo eletroquímico de $Fe[Fe(CN)_5NO]$ em eletrodo de pasta de grafite*. Eclet. Quím. **2002**, 27, 197-210.
- [18] Santos, M.; Miwa, D. W.; Machado, S.A.S.; Avaca, L. A. *Voltametric and rotating ring-disk studies of underpotential deposition of Ag and Cu on polycrystalline Au electrodes in aqueous H_2SO_4* . Electrochimica Acta **1998**, 43, 16, 2263-2272.
- [19] Buttry, D.A.; Ward, M.D. *Measurement of Interfacial Processes at Electrode Surfaces with the Electrochemical Quartz Microbalance*. Chem. Rev. **1992**, 92, 1355-1379.
- [20] Bruckenstein, S.; Swathirajan, S. *Potential dependence of lead and silver underpotential coverages in acetonitrile using a piezoelectric crystal oscillator method*. Electrochim. Acta **1985**, 30, 7, 851-855.

- [21] Wagner, K.; Strojek, J.W.; Koziel, K. *Electrochemical and quartz crystal microbalance studies of lead (II) deposition and stripping in the presence of copper and a gold electrode modified with 2,2'-bipyridil in polyaniline*. Anal. Chim. Acta **2002**, 455, 69-81.
- [22] Bonfil, Y.; Brand, M.; Eisner, E.K. *Characteristics of subtractive anodic stripping voltammetry of Pb and Cd at silver and gold electrodes*. Anal. Chim. Acta **2002**, 464, 99-114.
- [23] Melroy, O.; Kanazawa, K.; Gordon, J.G.; Buttry, D. *Direct Determination of the mass of an underpotentially deposited monolayer of lead on gold*. Langmuir **1986**, 2, 697-700.
- [24] Deakin, M.R.; Melroy, O. *Underpotential metal deposition on gold, monitored in situ with a quartz microbalance*. J. of Electrochemical Chem. **1988**, 239, 1-2, 321-331.
- [25] Wopschall, R. H; Shain, I. *Effects of Adsorption of Electroactive Species in Stationary Electrode Polarography*. Anal. Chem **1967**, 39, 13, 1514-1527.
- [26] R. Greef, R. Peat, L.M. Peter, D. Pletcher and J. Robinson, *Instrumental Methods in Electrochemistry*, Ellis Horwood Limited, Chichester, **1985**.
- [27] Liu, A.; Gonzalez D.; *Modeling Adsorption of Copper (II), Cadmium (II) and Lead (II) on purified Humic Acid*. Langmuir **2000**, 16, 3902-3909.
- [28] Chien, S-W. C.; Huang, C-C.; Wang, M-C. *Reactions of Refuse Compost- Derived Humic Substances with Lead, Copper, Cadmium, and Zinc*. Intern. J. of Appl. Sci. and Eng. **2003**, 1,2: 137-147.
- [29] Yamasaki, A.; Oliveira, J.A.B.P.; Duarte, A.C. Gomes, M.T.S.R *Application of an acoustic wave sensor for copper quantification in the water and particulate matter of the Ria de Aveiro*. 9th International Conference on Environmental Science and Technology, A1653-A1658, 2005.
- [30] Martyniuk, H.; Wieckowska, J. *Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals*. Fuel Processing Tech **2003**, 84, 23-36.
- [31] Salomons and Förstner U. *Metals in the Hydrocycle*, Springer-Verlag Heidelberg, 1984.

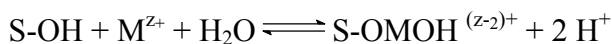
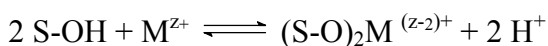
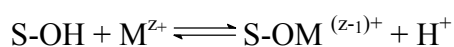
[32] Cancino L.; Neves, R. *Hydrodynamic and sediment suspension modelling in estuarine systems, Part II: Application to the Western Scheldt and Gironde estuaries*. Journal of Marine Systems **1999b**, 22, 117-131.

6.1 Os Processos de Adsorção e as Interações dos Íons Metálicos

Os processos de adsorção provocam a imobilização dos metais pesados, sendo por isso de primordial importância nos ambientes aquáticos. Analisando-se o processo de adsorção sob o ponto de vista das interações que ocorrem entre o adsorvente e o adsorvato, verifica-se que estas podem ser de caráter físico ou químico. Quando as interações são de caráter puramente físico (adsorção de van der Waals) ela é caracterizada pela fraca atração do cátion metálico pela superfície sólida, tornando a interação reversível e não específica. Na adsorção física o processo possui uma baixa energia de ativação e atinge rapidamente o equilíbrio.

Na adsorção química, as moléculas ou átomos fixam-se à superfície pela formação de uma ligação química, normalmente covalente, e tendem a encontrar locais que maximizem seu número de coordenação. São freqüentemente irreversíveis e a entalpia de adsorção é muito maior que na adsorção física. A distância entre a superfície e o átomo adsorvido mais próximo também é tipicamente menor na adsorção química que na adsorção física. Uma molécula adsorvida quimicamente pode se fragmentar devido à demanda por valências não satisfeitas dos átomos superficiais, e a existência desses fragmentos é uma das razões pelas quais superfícies sólidas catalisam reações [1].

As interações dos íons metálicos (M^{n+}) com os sítios de ligação das superfícies dos sólidos podem formar complexos, de acordo com as seguintes reações de equilíbrio [2,3].



Metais na forma de traços têm produzido efeitos tóxicos e bio-acumulativos na saúde humana e no meio ambiente terrestre e aquático, gerando grande interesse no seu comportamento, transporte e destino final. Os óxidos de ferro, manganês e a matéria orgânica são reconhecidamente os três componentes mais importantes que adsorvem

metais na forma de traços e têm representado um papel importante em ambientes aquáticos, sendo componentes de grande relevância nos fenômenos de adsorção [4,5]. Apesar de todos os metais interagirem com as superfícies do material particulado em suspensão, as forças de adsorção em geral são muito maiores para os metais em concentrações em níveis de traços (Cu, Pb, Zn, Cd) do que para os metais presentes em grandes concentrações (Na, K, Ca, Mg).

Vários fatores podem influenciar a distribuição dos traços de íons metálicos em águas naturais, como o tipo de cátion metálico, a natureza e a concentração do material adsorvente, o pH, a salinidade, o carbono orgânico dissolvido, a alcalinidade, a competição entre cátions, entre outros fatores [6,7].

Com base nesses fatos, elaborou-se uma pesquisa que consistiu em realizar estudos de adsorção do Cu e do Pb em contato com substâncias que simulassem o material orgânico e particulado natural, utilizando uma MCQ. Essa pesquisa se concretizou revestindo-se os cristais com óxidos metálicos e ácido húmico, os quais permitiram modelar esses componentes existentes nos sistemas estuarinos.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Instrumentação

Para os estudos de adsorção, empregou-se uma MCQ, cujo esquema detalhado encontra-se representado na Figura 6.1. O sistema é constituído por uma célula termostaticada na qual se encaixa o cristal piezoelétrico e também por um oscilador, um banho termostaticado e um freqüencímetro.

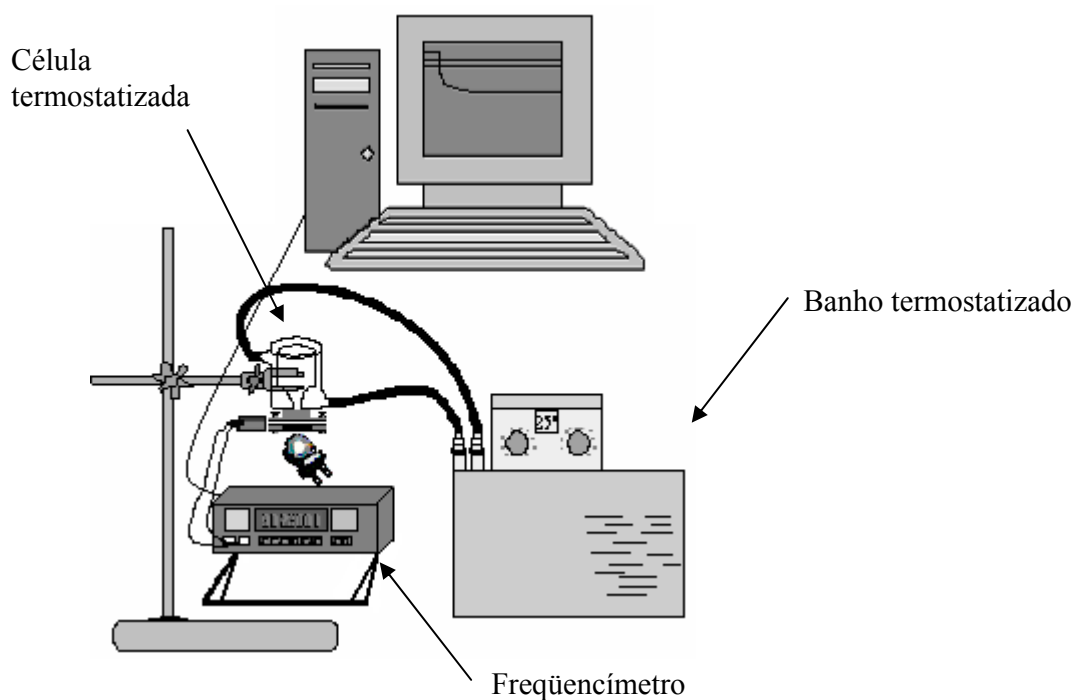


Figura 6.1 Representação esquemática utilizada para os estudos de adsorção

Para o estudo de verificação da formação de α -FeOOH e MnO_2 , recorreu-se à técnica de difração de RX, utilizando-se de um Difratorômetro de RX da marca Philips XPERT-MPD.

Para determinar o pH das amostras de sedimento, utilizou-se um potenciômetro com eletrodo de vidro combinado, 3,5 M KCl, com junção dupla (HI 1230D).

6.2.2 Reagentes

O reagente utilizado para tamponar a solução foi de PIPES (Piperazina-N,N'-bis [2-ácido etanosulfônico]) (Sigma P-6757), pKa 6,8, a uma concentração de 0,01 mol L⁻¹.

Os reagentes utilizados para preparar as soluções de Pb²⁺ e Cu²⁺ foram os padrões de Pb²⁺ (Panreac 313189) e Cu²⁺ (Panreac 313178) a 1000 mg L⁻¹.

O reagente utilizado para sintetizar o MnO₂ foi o Mn(NO₃)₂.4H₂O (Sigma M4519), e o utilizado para sintetizar o α-FeOOH foi o FeSO₄.7H₂O (Sigma-Aldrich F8048). O ácido húmico utilizado (Fluka-53680) foi dissolvido em Tetrahidrofurano extra puro, THF, (Merck 8114).

Para controlar a força iônica, empregou-se NaNO₃ (Riedel-de Haën 31440) a uma concentração de 0,291 mol L⁻¹.

Para determinar o pH das amostras de sedimento, utilizou-se uma solução de CaCl₂, (MLAS 50075) a 0,01 mol L⁻¹.

6.2.3 Procedimentos

6.2.3.1 Revestimento dos Cristais Piezoelétricos com MnO₂, α-FeOOH e Ácido Húmico

Para o revestimento do cristal piezoelétrico com MnO₂, utilizou-se uma pequena porção de Mn(NO₃)₂.4H₂O que foi colocada sobre o cristal e levada a uma temperatura de 36° C, até a formação de um líquido transparente e viscoso. Após o processo anterior e com o cristal piezoelétrico já com a camada do líquido, submeteu-se o mesmo a uma temperatura de 177 °C por algumas horas até que sua superfície ficasse totalmente oxidada, resultando no produto final MnO₂ [8].

Para o revestimento com α-FeOOH sintética, utilizou-se 13,9 g de FeSO₄.7H₂O em 1 litro de água Milli Q previamente borbulhada com N₂ durante 30 minutos. Logo depois adicionou-se 110 cm³ de solução de NaHCO₃ 1 mol dm⁻³ e transferiu-se a solução para um erlenmeyer, agitando-se continuamente à temperatura ambiente por um período de 48 horas [9]. Após obter uma solução com coloração característica de α-FeOOH, colocou-se

uma gota dela sobre o cristal e submeteu-se à rotação, no “spin coater”, até obter uma camada fina e homogênea.

Para o revestimento com ácido húmico, empregou-se uma pequena porção do material dissolvido em THF e colocou-se uma gota sobre o cristal. Deixou-se secar por um período de 3 dias para depois proceder-se à realização dos experimentos.

6.2.3.2 Caracterização dos Revestimentos por Difração de RX

A difração de raios X foi utilizada para a identificação mineralógica dos produtos sintetizados α -FeOOH e MnO_2 . Os difratogramas foram adquiridos utilizando-se uma varredura $15 < 2\theta < 60$ a $0,05^\circ/4s$ para o MnO_2 e $0,05^\circ/1s$ para α -FeOOH. A seguir, os dados foram eletronicamente comparados por um banco de dados do ICDD - International Center on Diffraction Data (PDF-4 full file 2004).

6.2.4 Adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} em Tampão PIPES no Cristal Revestido com MnO_2 , α -FeOOH e AH.

Para os estudos de adsorção dos metais Cu^{2+} e Pb^{2+} em solução, utilizou-se tampão PIPES $\text{pK}_a = 6,8$, pelo fato de ele não complexar com os metais em estudo [10] e possuir um pH muito próximo aos encontrados no sedimento da Ria de Aveiro. Aliquotas da solução tamponada foram dispostas na célula termostatzada, em contato com o cristal revestido, em volume de 15 mL, e posteriormente tiveram suas temperaturas ajustadas entre 10 e 50°C , com intervalos de 5°C . Aliquotas do metal em estudo foram transferidas em pequenas quantidades para o interior da célula, de modo a obterem-se concentrações que variassem entre 1 e 28 mg L^{-1} . Após cada adição, verificou-se que houve uma diminuição nos valores da frequência do cristal piezoelétrico. Por conseguinte, com a diferença das frequências inicial e final do experimento, efetuaram-se estudos não só das constantes de Langmuir, como também dos cálculos da entalpia de adsorção para cada metal em contato com o adsorvente específico.

6.2.5 Determinação do pH do Sedimento da Ria de Aveiro

A determinação do pH do sedimento da Ria de Aveiro foi realizada transferindo-se 5 mL de sedimento e 25 mL de água destilada para um erlenmeyer de 50 mL. Agitou-se vigorosamente a mistura durante 5 minutos e deixou-se em repouso por 2 horas. A seguir, fez-se a determinação do pH na suspensão [11].

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Quantidade de Revestimento nos Cristais de Quartzo

A quantidade de revestimento no cristal de quartzo foi sempre calculada com base na diferença das frequências observadas do cristal antes e depois do revestimento. Os resultados obtidos foram 36,5 kHz para MnO_2 , 35,0 kHz para $\alpha\text{-FeOOH}$ e 33,0 kHz para AH.

6.3.2 Caracterização Mineralógica do $\alpha\text{-FeOOH}$ e MnO_2

A difração de raios X foi utilizada para a caracterização mineralógica dos produtos sintetizados $\alpha\text{-FeOOH}$ e MnO_2 . Para o primeiro mineral, obteve-se o difratograma do pó sintetizado, enquanto para o segundo se analisou o revestimento sobre o cristal. A Figura 6.2 mostra o difratograma obtido para o MnO_2 , podendo-se observar um pico maior, correspondente ao ouro do cristal piezoelétrico, e outros menores, que correspondem à formação de duas estruturas para o MnO_2 , sendo uma tetragonal e outra hexagonal. A formação do pico do ouro deve-se ao fato de o revestimento ter sido analisado sobre o cristal piezoelétrico de quartzo.

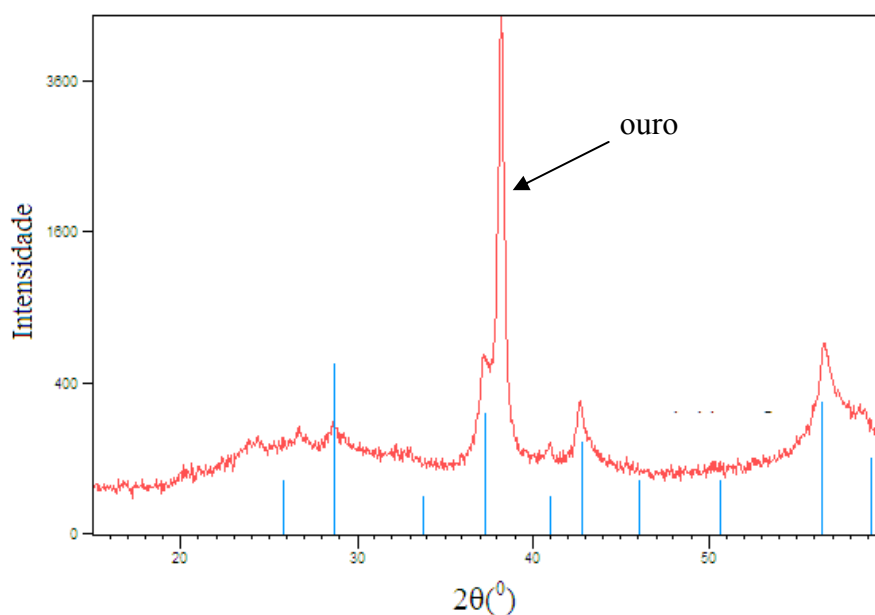


Figura 6.2 Difratograma de RX para o MnO_2

A Figura 6.3 mostra o difratograma obtido para o α -FeOOH, resultado do pó sintetizado. Pode-se observar a formação de vários picos, todos correspondentes ao composto em questão.

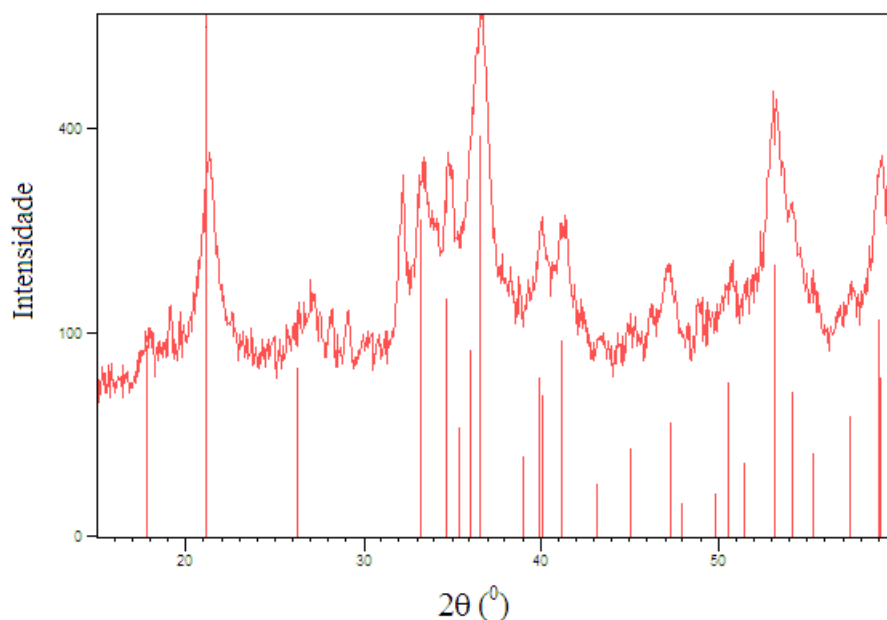


Figura 6.3 Difratograma de RX para o α -FeOOH

6.3.3 Investigação das Isotermas de Adsorção para os Cátions Cu e Pb

O processo de adsorção de um cátion metálico em uma superfície tem sido freqüentemente descrito em termos de suas isotermas de adsorção, de onde se obtém a relação entre a quantidade do cátion adsorvido na superfície do sólido e a concentração do cátion livre (dissolvido) na fase aquosa, à uma dada temperatura, em uma faixa de concentração total do metal a um dado pH [12]. Para observar melhor essa relação, foram realizados experimentos nos quais os cátions Cu e Pb, em uma faixa de concentração total variando entre 1 e 28 mg L⁻¹, entraram em contato com o tampão PIPES pH 6,8 com força iônica controlada, a temperaturas que variaram entre 10° e 50 °C, com intervalos de 5° C. Além de controlar a força iônica com NaNO₃, pelo fato de os nitratos não complexarem significativamente com os cátions metálicos [13], procurou-se utilizar o tampão PIPES com

pH o mais próximo possível aos observados nos sedimentos da Ria de Aveiro que são, em média, de 6,9.

As frequências dos cristais foram registradas ao longo do tempo. Inicialmente observou-se um decréscimo acentuado nas frequências dos cristais piezoelétricos, atingindo-se estabilização para tempos de ~300 segundos.

As Figuras 6.4a e b mostram os decréscimos de frequência provocados pelo Cu e Pb quando em contato com o cristal revestido com MnO₂. Como se pode observar na Figura 6.4a, que apresenta os resultados dos processos de adsorção do Pb em contato com o MnO₂, para a temperatura de 10 °C houve um decréscimo de frequência de 1599 Hz, enquanto para a temperatura de 50 °C o decréscimo de frequência foi de 887 Hz. No caso do Cu em contato com o mesmo adsorvente, representado pela Figura 6.4b, observou-se um decréscimo de frequência de 1498 Hz a 10 °C e 798 Hz a 50 °C, o que significa que a resposta diminui com o aumento da temperatura e que a adsorção é favorecida pelas baixas temperaturas.

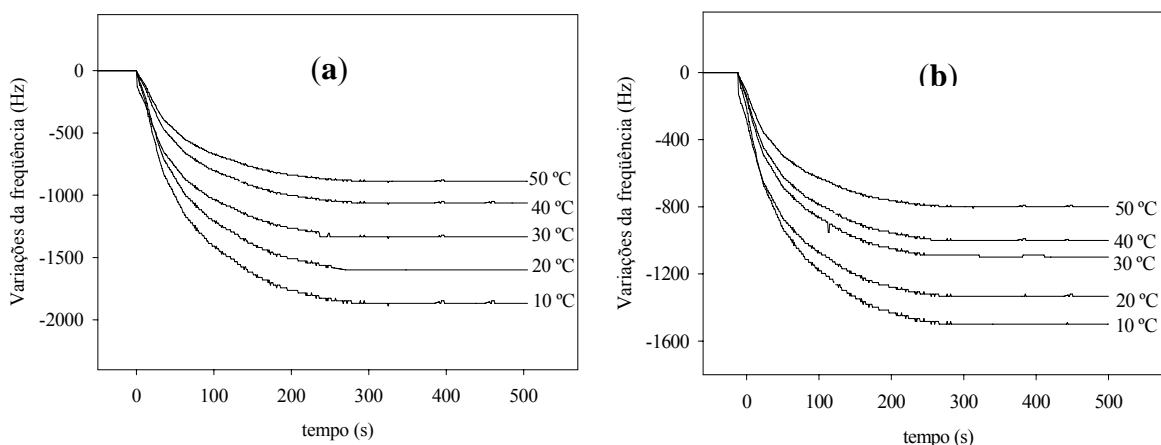


Figura 6.4 Variações de frequência provocadas pelo Pb²⁺ (a) e Cu²⁺ (b), 28 mg L⁻¹, quando em contato com o MnO₂, para temperaturas entre 10 e 50 °C.

Na adsorção espontânea, há uma diminuição da energia livre superficial do sistema, ($\Delta G < 0$), prevendo-se uma diminuição do número de graus de liberdade do sistema, pois as moléculas do adsorvato só podem se deslocar sobre a superfície do adsorvente, ($\Delta S < 0$).

Como $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, o ΔH será negativo, mostrando que a adsorção espontânea é também um processo exotérmico. Em condições de equilíbrio, a adsorção aumenta portanto com a diminuição da temperatura [14,15].

As formas das curvas observadas para os casos em estudo são consistentes com uma adsorção unimolecular e são quase sempre bem interpretadas por uma isoterma de Langmuir [15]. Os modelos das isotermas de Langmuir admitem que a adsorção pode ocorrer em monocamada que contém um número finito de sítios idênticos, cujas energias de adsorção são uniformes e os adsorvatos não interagem lateralmente no plano da superfície. Essas isotermas tratam os sítios ativos superficiais de modo análogo aos ligantes em solução, que formam complexos dissolvidos com os íons metálicos e aplicam-se nos casos que envolvem tanto a adsorção física quanto a química, de forma tal que não é possível exceder a monocamada [16,17].

Estudos complementares dos processos de adsorção de Cu^{2+} e Pb^{2+} foram realizados com o MnO_2 a temperaturas entre 10 e 50 °C e concentrações variando entre 1 e 58 mg L^{-1} . As Figuras 6.5 e 6.6 mostram as variações de frequência provocadas pelo Cu^{2+} e Pb^{2+} quando em contato com MnO_2 .

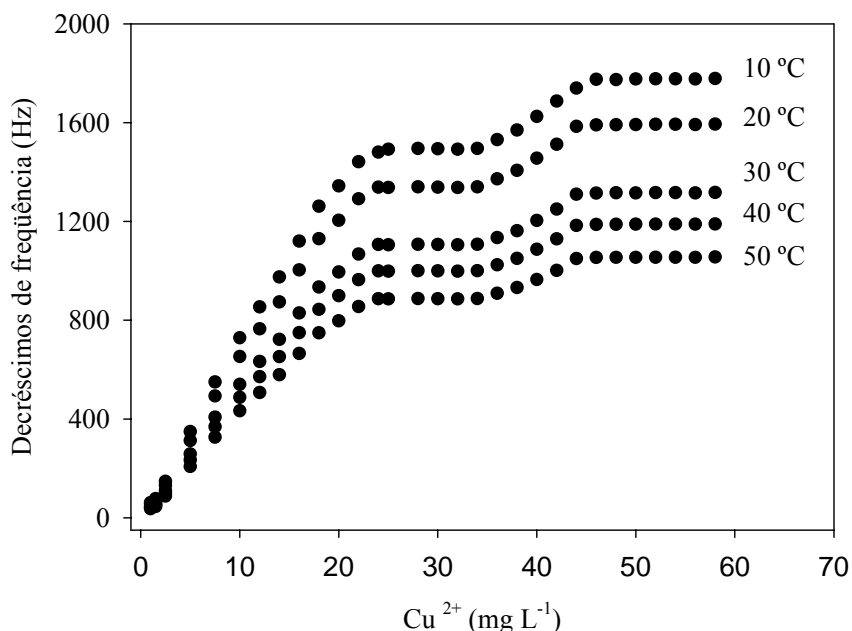


Figura 6.5 Decréscimos de frequência provocados pelo Cu^{2+} , a concentrações entre 1 e 52 mg L^{-1} , quando em contato com o MnO_2

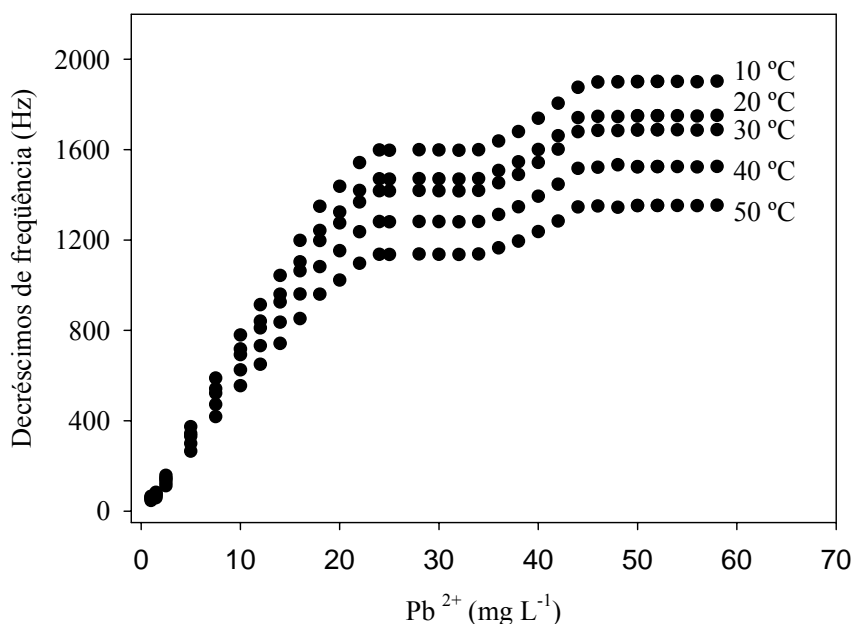


Figura 6.6 Decréscimos de frequência provocados pelo Pb^{2+} , a concentrações entre 1 e 52 $mg L^{-1}$, quando em contato com o MnO_2

Como se observa, ambos os gráficos dividem-se em duas partes, sendo a primeira parte para concentrações que variam de 1 a 32 $mg L^{-1}$ e a segunda parte para concentrações que variam entre 34 e 58 $mg L^{-1}$ [18].

A partir das Figuras 6.5 e 6.6, observa-se que os sítios de superfície do MnO_2 não são equivalentes e que pelo menos dois, com diferentes energias de ligação, são existentes. Quando os sítios de adsorção estão em excesso eles comportam-se como se todos fossem equivalentes, podendo o modelo de Langmuir ser assumido. Porém, quando os sítios de adsorção tornam-se raros, porque eles estão ocupados, locais de maior energia começam a ser preenchidos. Então, outra camada de sítios homogêneos, com constantes de Langmuir menores, pode acomodar os íons metálicos extras. Estes locais mais enérgicos parecem estar em menor quantidade e a superfície é rapidamente saturada. As Figuras 6.5 e 6.6 são um exemplo claro do preenchimento de diferentes sítios de adsorção e são uma prova clara da eficiência dos sensores acústicos em estudos desse tipo. Estudos até agora realizados mostraram que existem realmente diferentes sítios de adsorção para α -FeOOH [19] e AH [20,21].

A Figura 6.7 mostra as diferenças de frequência observadas quando os cátions Cu e Pb, a concentrações variando entre 1 e 28 mg L⁻¹, entram em contato com o cristal revestido com MnO₂, a temperatura de 25 °C. Nesse caso, pode-se constatar que o Pb apresenta valores superiores de diferença de frequência que os observados para o Cu, o que vem a confirmar a afirmação feita por Dixon *et al.*, [22], quando diz que o MnO₂ adsorve preferencialmente os metais na seguinte ordem: Pb>Cu>Mn>Zn>Ni.

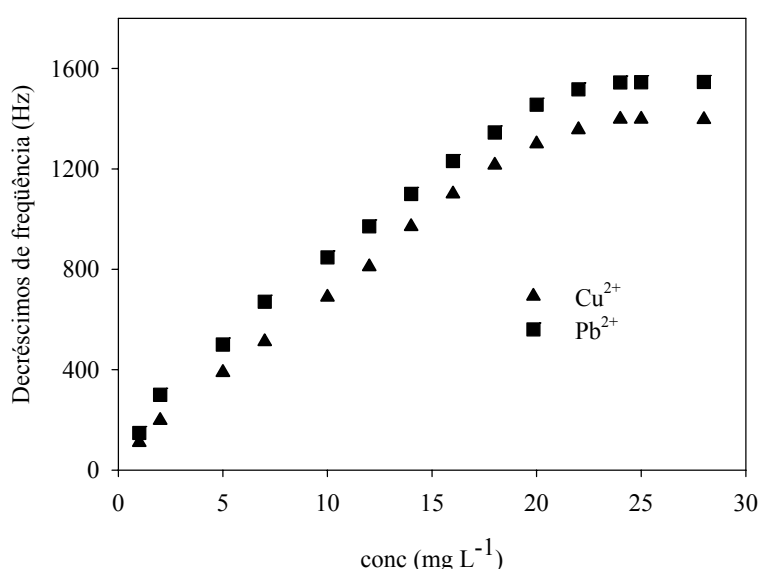


Figura 6.7 Decréscimos de frequência obtidos com Cu²⁺ e Pb²⁺ em contato com MnO₂ a 25 °C.

As Figuras 6.8a e b mostram os decréscimos de frequência provocados pelo Cu²⁺ e Pb²⁺ quando em contato com o cristal revestido com α -FeOOH. Na Figura 6.8a observa-se que à temperatura de 10 °C houve decréscimo de frequência de 1348 Hz, enquanto a 50 °C o decréscimo foi de 737 Hz. No caso do Pb em contato com o mesmo adsorvente, conforme representado na Figura 6.8b, observou-se um decréscimo de frequência de 1250 Hz a 10 °C e de 639 Hz a 50 °C, o que significa que a resposta diminui com o aumento da temperatura e que a adsorção é favorecida pelas baixas temperaturas.

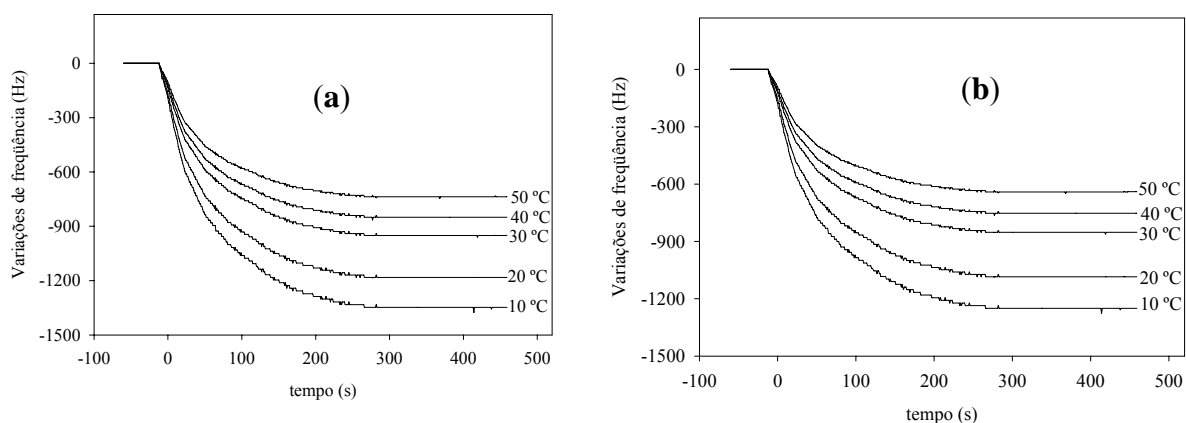


Figura 6.8 Variações de frequência provocadas pelo Cu²⁺ (a) e Pb²⁺ (b), 28 mg L⁻¹, quando em contato com α -FeOOH para temperaturas entre 10 e 50 °C.

A Figura 6.9 mostra as diferenças de frequência observadas quando o cristal, revestido com α -FeOOH, entra em contato com o Cu e Pb em diferentes concentrações, à temperatura de 25 °C. Nesse caso, pode-se concluir que o Cu apresenta diferenças de frequência superiores às observadas para o Pb, o que confirma os estudos de Dixon *et al.* [22], segundo o qual, α -FeOOH adsorve preferencialmente os metais na seguinte ordem: Cu>Pb>Zn>Cd>Co>Ni>Mn.

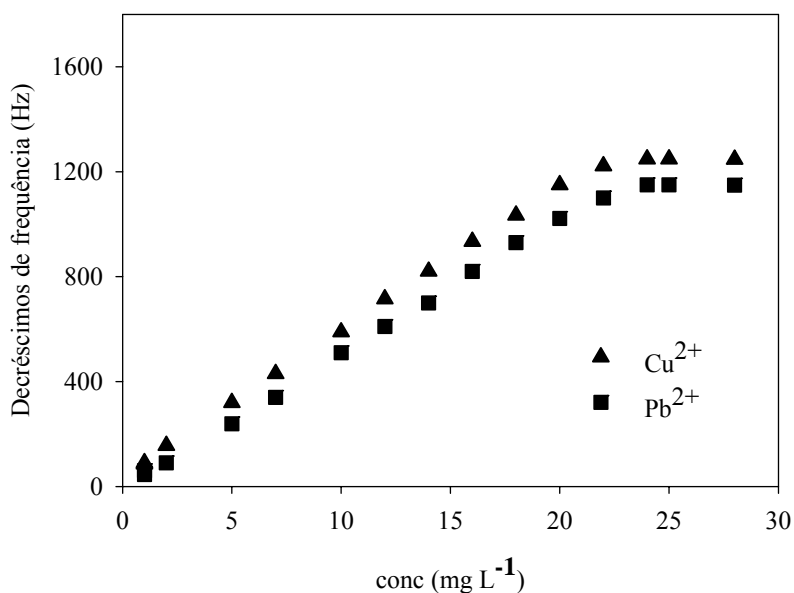
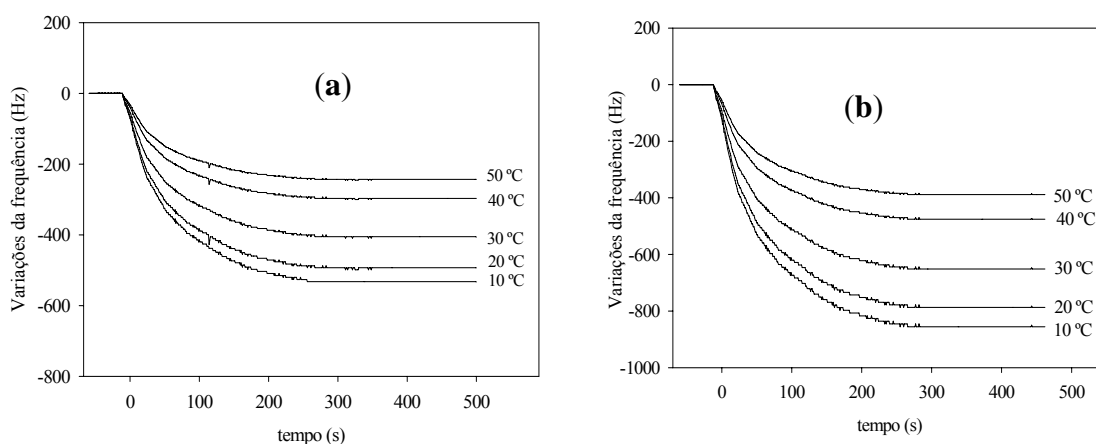


Figura 6.9 Decréscimos de frequência obtidos com Cu²⁺ e Pb²⁺ em contato com α -FeOOH a 25 °C.

As Figuras 6.10 **a** e **b** mostram os decréscimos de frequência provocados pelo Cu^{2+} e Pb^{2+} quando em contato com o cristal revestido com o AH. Como pode ser observado na Figura 6.10a, onde são apresentados os resultados dos processos de adsorção do Cu em contato com o AH, à temperatura de 50 °C, houve um decréscimo de frequência de 243 Hz, enquanto que a 10 °C a variação foi de 533 Hz. Na figura 6.10b, onde se encontra representado o Pb em contato com o mesmo adsorvente, observou-se um decréscimo de frequência de 855 Hz a 10 °C e de 388 Hz a 50 °C, o que significa que a resposta diminui com o aumento da temperatura e que a adsorção é favorecida pelas baixas temperaturas.



Figuras 6.10 Variações de frequência provocadas pelo Cu^{2+} (a) e Pb^{2+} (b), 28 mg L⁻¹, quando em contato com o AH, para temperaturas variando entre 10 e 50 °C.

A Figura 6.11 mostra as diferenças de frequência que são observadas quando os cátions Cu e Pb entram em contato com o cristal revestido com o AH, em diferentes concentrações, à temperatura de 25 °C. Nesse caso, pode-se observar que o Pb apresenta valores superiores de diferença de frequência que os observados para o Cu. Esse fato confirma a afirmação de vários autores que dizem existir uma maior capacidade de adsorção para o chumbo que para o cobre na seguinte ordem $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cd}$ [23,24,25]. Segundo alguns autores, os grupos fenólicos e carboxílicos existentes nos ácidos húmicos são os sítios de adsorção mais ativos e a ordem de eficiência de adsorção dos metais é função do pH, pois, em níveis de pH baixo há competição do metal com os íons H^+ dos

sítios ativos das macromoléculas e com o aumento do pH essa competição vai diminuindo [23,24,25].

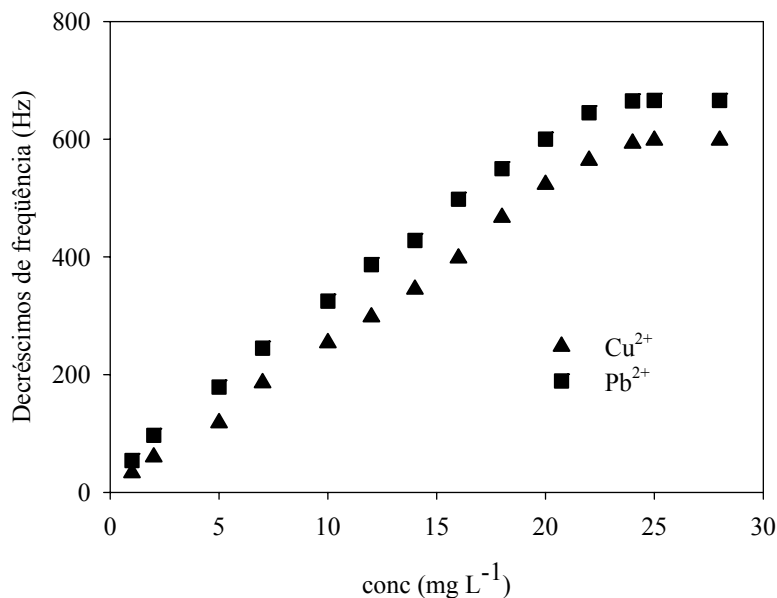


Figura 6.11 Decréscimos de frequência obtidos com Cu²⁺ e Pb²⁺ em contato com AH a 25 °C.

A fim de testar a aplicabilidade dos estudos até agora realizados, os cristais revestidos com MnO₂ foram colocados em contato com a água da Ria de Aveiro a uma temperatura de 15 °C. Essa temperatura foi escolhida pelo fato de estar muito próxima à temperatura existente nesse estuário. Os cristais sem nenhum revestimento sofreram variações de frequência de apenas 2 Hz, enquanto que o cristal revestido com MnO₂ sofreu um decréscimo de frequência de 8 Hz. Com esses resultados, pode-se constatar que com a MCQ é possível realizar estudos de adsorção de metais também em amostras reais, apesar dos resultados serem tão pequenos que tornam sua quantificação difícil.

6.3.4 Tratamento dos Dados das Isotermas

O tratamento dos dados das isotermas foi realizado com a finalidade de estimar as quantidades de cobre e chumbo adsorvidas pelas superfícies revestidas dos cristais com MnO_2 , $\alpha\text{-FeOOH}$ e AH . Um modelo adequado para realizar essas estimativas é expresso como Isoterma de Adsorção de Langmuir, que permite obter importantes parâmetros, tais como o coeficiente de equilíbrio de Langmuir (K) e a capacidade de adsorção (Γ_{\max}) de acordo com a equação 6.1:

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{\max} K C_M}{(1 + K C_M)} \quad , (6.1)$$

onde Γ é a densidade de adsorção do cátion no revestimento; C_M a concentração do cátion na solução (mol L^{-1}); Γ_{\max} a capacidade máxima de adsorção do cátion metálico. Esta equação pode ser linearizada e pode ser representada pela equação 6.2,

$$\frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_{\max} K} \frac{1}{C_M} + \frac{1}{\Gamma_{\max}} \quad , (6.2)$$

Transformando a equação para valores de frequência de vibração do cristal piezoelétrico, teremos a equação 6.3 descrita como segue:

$$\frac{1}{\frac{\Delta f_{\text{leitura}}}{\Delta f_{\text{revestimento}}}} = \frac{1}{K} \frac{1}{\frac{f_{\infty}}{\Delta f_{\text{revestimento}}}} \times \frac{1}{C_M} + \frac{1}{\frac{f_{\infty}}{\Delta f_{\text{revestimento}}}} \quad , (6.3)$$

onde Δf corresponde ao decréscimo de frequência quando o cátion metálico interage com o revestimento. Através da equação acima, obtém-se uma reta de calibração cuja equação

geral é $y = mx + b$, sendo $y = \frac{1}{\frac{\Delta f_{\text{leitura}}}{\Delta f_{\text{revestimento}}}}$ e $x = \frac{1}{C_M}$ que permite obter os valores do

coeficiente de equilíbrio de Langmuir através da equação 6.4.

$$K = \frac{b}{m}, \quad (6.4)$$

Os valores para as constantes de equilíbrio obtidas nas reações de Cu em contato com α -FeOOH, MnO_2 e AH encontram-se dispostos na Tabela 6.1. Esses valores demonstram que as constantes de Langmuir são maiores para α -FeOOH do que para MnO_2 e AH, vindo mais uma vez a confirmar a citação de diversos autores que afirmam a maior capacidade de adsorção do Cu com α -FeOOH.

Cu^{2+}	α -FeOOH		MnO_2		HA	
Temp. (°C)	K (L mol ⁻¹)	r^2	K (L mol ⁻¹)	r^2	K (L mol ⁻¹)	r^2
10	41,00	0,9988	35,03	0,9989	23,02	0,9988
15	32,56	0,9991	27,49	0,9992	18,75	0,9991
20	28,07	0,9987	23,65	0,9989	16,65	0,9987
25	23,06	0,9986	17,08	0,9984	14,43	0,9986
30	19,70	0,9984	14,68	0,9987	12,15	0,9984
35	15,13	0,9987	12,18	0,9985	9,87	0,9987
40	11,70	0,9985	9,75	0,9987	8,72	0,9985
45	9,88	0,9986	7,92	0,9991	6,45	0,9986
50	8,64	0,9988	6,72	0,9990	5,12	0,9988

Tabela 6.1 Constantes de Langmuir e coeficientes de correlação obtidos para Cu^{2+} quando em contato com α -FeOOH, MnO_2 e AH.

A Tabela 6.2 mostra os mesmos estudos, porém com Pb. Observando os dados obtidos, constata-se que os maiores resultados das constantes de Langmuir são para o MnO_2 , quando comparado com os outros adsorventes em questão. Esses resultados só confirmam as afirmações de outros autores de que o Pb adsorve preferencialmente o MnO_2 aos outros adsorventes em estudo. Observando-se os coeficientes de correlação obtidos, tanto para a Tabela 6.1 quanto para a 6.2, pode-se concluir que o modelo adapta-se bem à isoterma de Langmuir.

Pb^{2+}	$\alpha\text{-FeOOH}$		MnO_2		HA	
Temp. (°C)	K (L mol ⁻¹)	r^2	K (L mol ⁻¹)	r^2	K (L mol ⁻¹)	r^2
10	38,26	0,9983	45,12	0,9988	28,02	0,9983
15	31,38	0,9985	40,56	0,9986	22,75	0,9981
20	27,18	0,9984	31,07	0,9981	19,85	0,9982
25	21,51	0,9982	26,06	0,9986	18,63	0,9984
30	17,67	0,9983	22,70	0,9982	15,76	0,9983
35	14,11	0,9988	18,13	0,9984	12,47	0,9984
40	10,16	0,9982	14,70	0,9987	9,92	0,9982
45	9,02	0,9983	12,18	0,9992	8,12	0,9985
50	8,14	0,9982	10,24	0,9991	7,23	0,9982

Tabela 6.2 Constantes de Langmuir e coeficientes de correlação obtidos para Pb^{2+} quando em contato com $\alpha\text{-FeOOH}$, MnO_2 e AH.

Comparando-se as Tabelas 6.1 e 6.2 para os resultados obtidos de Cu e Pb em contato com AH, constata-se não apenas valores inferiores das constantes de Langmuir para o Cu quando comparado ao Pb, mas também valores bem inferiores aos obtidos para Cu e Pb em contato com os óxidos metálicos. Essa constatação foi também observada por

Dong *et al.*, 2001 [6] ao afirmar que a adsorção de metais na matéria orgânica torna-se irrelevante se comparada com os óxidos metálicos.

Com base nos valores das constantes de Langmuir obtidas nas tabelas acima e recorrendo-se à expressão $\ln K = \frac{-\Delta H^0}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \text{constante}$, é possível calcular ΔH^0 através da representação gráfica de $\ln K$ em função de $\frac{1}{T}$. Na Figura 6.12 encontra-se representado esse gráfico para os experimentos realizados com Cu em contato com α -FeOOH, demonstrando que, com o declive da reta, foi possível determinar o valor da entalpia de adsorção de $-30,32 \text{ kJ mol}^{-1}$.

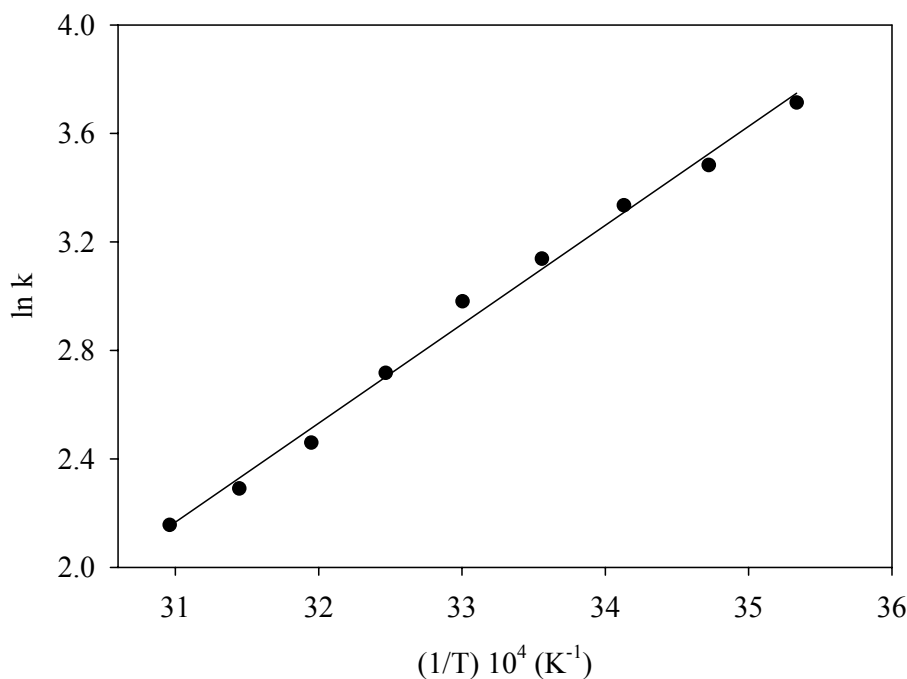


Figura 6.12 Representação das constantes de Langmuir em função do inverso da temperatura para cobre em α -FeOOH

Os resultado da entalpia de adsorção obtida para o mesmo metal em MnO_2 foi de $-31,58 \text{ kJ mol}^{-1}$ e em AH foi de $-27,47 \text{ kJ mol}^{-1}$. Para o Pb, os valores das entalpias de adsorção obtidos através dos mesmos cálculos foram $-31,20 \text{ kJ mol}^{-1}$ para α -FeOOH, $-33,26 \text{ kJ mol}^{-1}$ para MnO_2 e $-21,71 \text{ kJ mol}^{-1}$ para AH [26]. Esse é um método não calorimétrico de determinar a entalpia de adsorção. Comparando-se os resultados obtidos com o valor citado pela literatura, pode-se dizer que todos os processos de

adsorção estudados até agora foram caracterizados como adsorção física, pelo fato de que nenhum deles excedeu o máximo de -40 kJ mol^{-1} [27].

Como complementação dos estudos até agora realizados para os processos de adsorção do Cu^{2+} e Pb^{2+} em MnO_2 , foram obtidos resultados que permitiram calcular os valores das constantes de Langmuir para as diferentes curvas encontradas nas Figuras 6.5 e 6.6. Como pode-se observar na Tabela 6.3, os valores das constantes de Langmuir obtidas para as concentrações que variaram entre 1 e 32 mg L^{-1} foram superiores às constantes obtidas para as concentrações que variaram entre 34 e 58 mg L^{-1} . Essas constatações só vêm a confirmar as teorias discutidas anteriormente e que a existência de outra camada de sítios homogêneos pode acomodar íons metálicos extras. Sendo estes locais mais energéticos, e por parecerem estar em menor número, a superfície é saturada prontamente. Daí os valores das constantes de Langmuir serem menores.

MnO₂	K (L mol⁻¹)		K (L mol⁻¹)	
	1-32 mg L⁻¹		34-58 mg L⁻¹	
Temp. (°C)	Cu²⁺	Pb²⁺	Cu²⁺	Pb²⁺
10	35.1	45.0	25.0	32.4
20	23.7	31.2	13.4	21.2
30	14.5	22.9	9.7	11.7
40	9.8	14.3	5.3	7.6
50	6.8	10.2	1.32	2.47

Tabela 6.3 Constantes de Langmuir para Cu^{2+} e Pb^{2+} quando em contato com MnO_2 a concentrações entre 1 e 52 mg L^{-1}

6.4 CONCLUSÃO

A Microbalança de Cristais de Quartzo permitiu realizar estudos de adsorção de Cu e Pb com substâncias que simularam o material orgânico e particulado natural existentes nos sistemas estuarinos.

As metodologias desenvolvidas com a Microbalança foram úteis e adequadas não só para se observarem os fenômenos de adsorção que ocorrem nos ambientes estuarinos, como também para dar informações químicas adicionais, tais como as entalpias de adsorção. Os fenômenos de adsorção foram monitorados em tempo real e as capacidades de adsorção relativas de cobre e chumbo em contato com MnO_2 , $\alpha\text{-FeOOH}$ e AH revelaram que o Cu^{2+} é preferencialmente adsorvido pelo $\alpha\text{-FeOOH}$ e em menor ordem de grandeza para o MnO_2 e AH, enquanto que o Pb^{2+} é adsorvido preferencialmente pelo MnO_2 e AH e em menor quantidade para o $\alpha\text{-FeOOH}$. O modelo de Langmuir pôde ser ajustado aos dados das isotermas de adsorção, tendo sido calculadas as entalpias de adsorção para cada adsorvente, ou seja, $-31,58 \text{ kJ mol}^{-1}$ para MnO_2 , $-30,32 \text{ kJ mol}^{-1}$ para $\alpha\text{-FeOOH}$ e $-27,47 \text{ kJ mol}^{-1}$ para AH quando em contato com o Cu^{2+} . Para o Pb^{2+} os valores foram de $-31,20 \text{ kJ mol}^{-1}$ para $\alpha\text{-FeOOH}$, $-33,26 \text{ kJ mol}^{-1}$ para MnO_2 e $-21,71 \text{ kJ mol}^{-1}$ para AH.

Tal como a maioria dos estudos de adsorção, esta pesquisa foi conduzida com concentrações do metal muito superiores aos encontrados no ambiente. No entanto, provou-se que o cristal piezoelétrico foi sensível à presença de substâncias já pré-existentes na água da Ria de Aveiro e podem ser adsorvidas no revestimento do cristal.

6.5 Referências Bibliográficas

- [1] Tewari, P. H. *Adsorption from aqueous solutions*. - New York, Plenum, 1981
- [2] Stumm W. *Aquatic Surface Chemistry. Chemical Processes at the Particle-Water Interface*. A Wiley- Interscience Publication by John Willey & Sons, Inc. 1987.
- [3] Sposito, G. *The chemistry of soils*. New York: Oxford University Press, 1989.
- [4] Di Toro, D.M; Mahony, J.D; Kirchgraber, P.R.; O'Byrne A.L.; Pasquale, L.R.; Piccirilli, D.C. *Effects of Nonreversibility, Particle Concentration, and Ionic Strenght on Heavy Metal Sorption*. Environ Sci. Technol. **1986**, 20, 55-61.
- [5] Westall J. C.; Jones J.; Turner, G. D.; Zachara , J.M. *Models for Association of Metal Ions with Heterogeneous Envimmneatal Sorbents. 1. Complexation of Co(II) by Leonardiie Humic Acid as a Function of pH and NaClO₄ concentration*. Environ. Sci. Technol. **1995**, 29, 951-959.
- [6] Dong D.; Li Y.; Zhang B.; Hua X.; Yue, B. *Selective chemical extraction and separation of Mn, Fe oxides and organic material in natural surface coatings: application to the study of trace metal adsorption mechanism in aquatic environments*. Microchemical Journal **2001**, 69,89-94.
- [7] Dong D.; Li Y.; Zhang B.; Hua X. *Investigation of Fe, Mn oxides and organic material in surface coatings and Pb, Cd adsorption to surface coatings developed in different natural waters*. .Microchemical Journal **2001**, 70, 25-33.
- [8] Edmonds, T.E. *The adsorption of nitrogen dioxide onto manganese dioxide-coated quartz piezoelectric crystals*. Anal. Chim. Acta, **1988**, 207, 67-75.
- [9] Schwertmann, U. *Iron oxides in the laboratory: preparation and characterization*.–Weinheim VCH, 1991.
- [10] N. E. Good, G. Douglas W., W. Winter, T. N. Connolly, S. Izawa, R. Singh. *Hydrogen Ion buffers for biological Research*. Biochemistry:USA, **1966**, 5, 467-477.
- [11] Soil Quality Part 3: *Chemical Methods Section 3.2 Determination of pH*. British Standard BS 7755-3.2:1995 ISO 10390 1994.Licensed Copy: strsc 15, May 2002.

- [12] Stumm W. Aquatic Chemistry. *Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters. Processes at the Particle-Water Interface*. A Wiley- Interscience Publication by John Willey & Sons, Inc., 1996.
- [13] Balistrieri, L.S.; Murray, J.W. *The adsorption of Cu, Pb, Zn, and Cd on goethite from major ion seawater*. *Geoch et Cosm. Acta*, **1982**, 46, 1253-1265.
- [14] Weber Jr., Walter J. *Physicochemical processes for water quality control*.-New York: Wiley-Interscience, 1972.
- [15] Shaw, D.J. *Introduction to colloid and surface chemistry*.-London: Butterworths, 1980
- [16] Brunauer, S. *The adsorption of gases and vapors*. Vol 1.Princeton University Press: Princeton, 1945.
- [17] Atkins, P.W. *Physical Chemistr*. 4^a ed.; Oxford University Press: Oxford, 1990.
- [18] Yamasaki, A.; Oliveira, J.A.B.P.; Duarte A.C; Gomes, M.T.S.R. *Adsorption studies with environmental interest using an acoustic wave sensor*. In: Joint IEEE International Frequency Control Symposium and Precise Time and Time Interval (PTTI) System and Applications Meeting, Vancouver (Canada), 2005, (Submetido).
- [19] L. S. Balistrieri and J. W. Murray. *Metal-solid interactions in the marine environment: estimating apparent equilibrium constants*. *Geoch. et. Cosm. Acta* **1983**, 46, 1091-1098.
- [20]. C. P Jordão, C. Reis, C. R. Bellato, G. N. Jham, J. L. Pereira. *Adsorption of Cu²⁺ on humic acids*. *R. Esc, Minas* **2001**, 54, 109-114.
- [21]. Abate G., J. C. Masini. *Acid-basic and complexation properties of a sedimentary humic acid. A study on the Barra Bonita Reservoir of Tietê River, São Paulo State, Brazil*. *E. J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, 12, 109-116.
- [22] Dixon, J.B.; Weed, B. *Minerals in Soil Environments: Specific Adsorption of Heavy Metals*. 2nd ed. Madison University Press, Madison, 1989.

- [23] Liu, A.; Gonzalez D. *Modeling Adsorption of Copper (II), Cadmium (II) and Lead (II) on purified Humic Acid*. Langmuir **2000**, 16, 3902-3909.
- [24] Chien, S-W. C.;Huang, C-C.; Wang, M-C. *Reactions of Refuse Compost- Derived Humic Substances with Lead, Copper, Cadmium, and Zinc*. Intern. J. of Appl. Sci. and Eng. **2003**, 1,2, 137-147.
- [25] Martyniuk, H.; Wieckowska, J. *Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals*. Fuel Processing Tech **2003**, 84, 23-36.
- [26] Yamasaki, A.; Oliveira, J.A.B.P.; Duarte A.C; Gomes, M.T.S.Estimation of the Langmuir constants and heat of adsorption of copper and lead on goethite, manganese dioxide and humic acids, using an acoustic wave sensor. Langmuir (Submetido)
- [27] Levine, I.N. *Physical Chemistry*. 4 ed, McGraw-Hill International Editions, chemistry series, 1995.

7.1 As Bactérias Marinhas e sua Importância

No meio oceânico, a bactéria desempenha um papel importante em vários aspectos, quer pela quantidade e diversidade de espécies existentes, quer pelo número de processos em que participam. Sua importância no meio marinho não é menor do que na terra, pois são responsáveis pela regeneração de nutrientes, isto é, pela conversão de material orgânico em inorgânico, tornando-o assim disponível às plantas autotróficas, as quais, acredita-se, requerem esse material inorgânico para a nutrição. Além disso, as bactérias são responsáveis por fenômenos como a fixação do nitrogênio atmosférico e a conversão de nitritos em nitratos, vindo a desempenhar um papel importante na cadeia alimentar marinha.

Por definição, os estuários são bacias em que a água de um rio se mistura com a água do mar, por isso constituem, quanto à salinidade, ambientes distintos dos rios e do oceano e exigem, portanto, adaptações fisiológicas dos organismos [1].

A flora bacteriana das águas continentais possui relações mais ou menos estreitas com a terra. Em sua maioria, as bactérias existentes no meio marinho são organismos halófilos, ou seja, para viver necessitam dispor em seu meio de uma quantidade ótima de NaCl. Campbell [2] incluiu as bactérias marinhas entre os microorganismos pouco halófilos, cuja proporção salina oscila entre 20 e 50%, em oposição aos halófilos moderados e altos, que necessitam, respectivamente, de concentrações de 50 a 200% e 200 a 300% para desenvolverem-se bem. Além das bactérias halófilas, existem também as halotolerantes, isto é, que podem crescer em água doce, porém sua presença é muito pequena em mar aberto, estando a maioria presentes nas proximidades da costa, sobretudo em baías e estuários. As comunidades estuarinas são constituídas por bactérias autóctones, adaptadas às condições particulares desse ambiente, e também por bactérias dulciaquícolas, bactérias marinhas e ainda bactérias telúricas, que são transportadas pelas águas fluviais e de lixiviação. As bactérias intolerantes ou sensíveis não resistem ao aumento da salinidade e morrem nessas águas.

A maioria das bactérias marinhas são gram-negativas e quase todas são organismos anaeróbios facultativos, que por regra geral se desenvolvem melhor em presença de

oxigênio. Quase a maior parte é capaz de utilizar baixas concentrações de meios nutritivos, o que permite o desenvolvimento na água do mar, ainda que ela seja muito pobre em nutrientes. No entanto, alguns desses microorganismos crescem apenas em determinados substratos sólidos. A adaptação a essa baixa concentração de nutrientes presentes na água do mar poderia ser a causa do pleomorfismo que essas bactérias mostram nos cultivos, até o ponto de ser freqüente se observar tanto nos meios sólidos como em líquidos as mais diversas formas celulares. Bactérias que em geral têm aspecto de bacilos podem apresentar a forma de cocos, vibriões ou filamentos e espirais mais ou menos largos. Em cultivos velhos, não raro encontram-se também ramificações. O pleomorfismo se observa naturalmente também nas bactérias de outros biótopos, mas parece não ser tão freqüente como nas marinhas.

Uma parte considerável das bactérias do mar pode desenvolver-se em temperaturas compreendidas entre 0 e 4 °C. A temperatura ótima se encontra muitas vezes entre 18 e 22 °C, e a máxima poucos graus acima. Portanto, a proporção das formas psicrófilas no mar é elevada. Trata-se sobretudo de bactérias psicrófilas facultativas, ou seja, das formas que, segundo Reinheimer [3], crescem bem a 0 °C ainda que sua temperatura ótima de crescimento seja 20 °C ou mais. Sabendo-se que em 90% do meio marinho imperam sempre temperaturas inferiores a 5 °C, a importância das bactérias psicrófilas que se desenvolvem nesse meio deve ser muito maior do que se supunha [3].

Os estuários são considerados habitats para uma grande diversidade de espécies biológicas, e a toxicidade de certos metais presentes nesses ambientes é preocupante, tendo em vista que as bactérias marinhas podem ser de fundamental importância para o desenvolvimento da vida aquática.

Com base nesses fatos, realizou-se uma pesquisa que visa estudar o efeito do cobre no crescimento de bactérias estuarinas, bem como observar o seu comportamento perante diferentes níveis de exposição ao metal em questão.

7.2 Material e Métodos

7.2.1 Procedimentos

7.2.1.1 Coleta e Acondicionamento das Amostras

As amostras de água foram coletadas na Ria de Aveiro, no Canal da Barra, local onde ocorre a junção entre o mar e a ria, conforme representado na Figura 3.2 do Capítulo 3.

Para o isolamento das bactérias, as amostras foram acondicionadas em frascos plásticos, transportadas até o laboratório de microbiologia a uma temperatura de 5 °C.

7.2.1.2 Isolamento e Identificação Bacteriana

O isolamento das bactérias coletadas na Ria de Aveiro foi realizado colocando-se pequenas porções das amostras de água em placas de Petri contendo meio nutritivo sólido a uma temperatura de 37 °C. Após se observar a formação de colônias, retirou-se uma pequena porção desta e transferiu-se para um Meio Nutritivo Líquido (MN) composto por NB (Nutrient Broth) dissolvido em solução de NaCl.

A identificação da bactéria foi realizada com base na sequenciação de rDNA 16s.

7.2.2 Reagentes e Soluções

O meio de cultura (MN) utilizado para o crescimento bacteriano foi o Bacto Nutrient Broth (DIFCO) (NB) a 4 g L⁻¹ em contato com 17 g L⁻¹ de NaCl de pureza analítica (Merck) e dissolvido em 1 litro de água Milli Q.

A solução estoque de Cu²⁺ aproximadamente 0,1 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se uma quantidade adequada de CuSO₄.5H₂O (Merck 1.02790) em água Milli Q.

As concentrações exatas das soluções de Cu²⁺, com pH ajustado em 6,8 e 7,2, com amônia 1:1, foram determinadas por um espectrofotômetro de Absorção Atômica Perkin Elmer AAnalyst 100.

7.2.3 Instrumentação

7.2.3.1 Monitoração do Crescimento Bacteriano Utilizando a MCQ

Para a monitoração do crescimento bacteriano empregou-se uma MCQ, cujo esquema detalhado encontra-se representado na Figura 7.1.

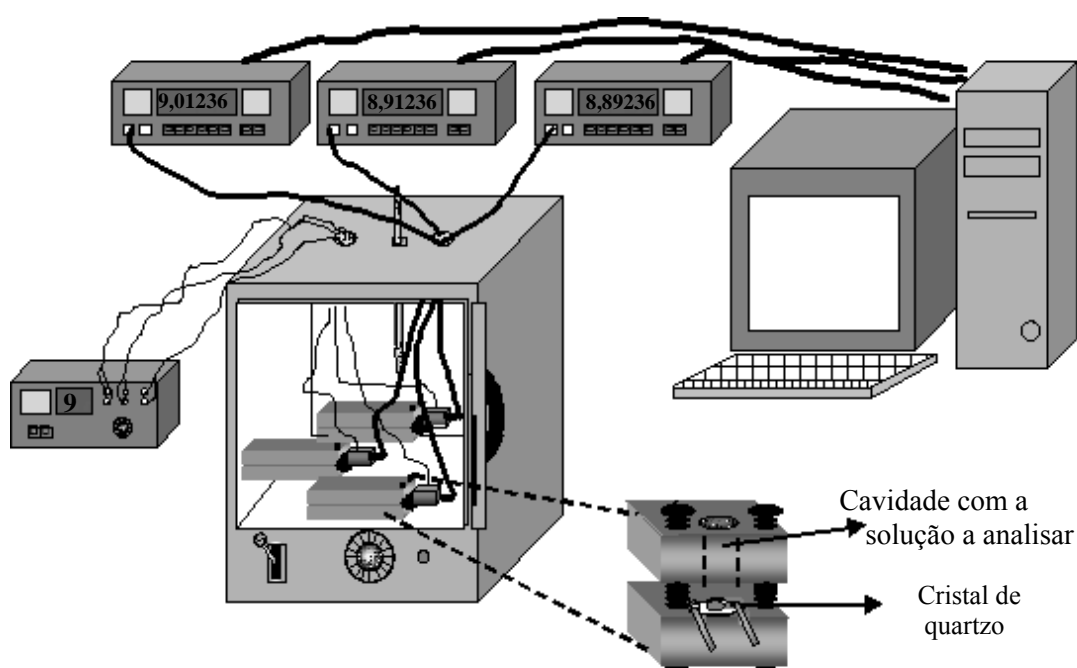


Figura 7.1 Esquema da monitoração do crescimento bacteriano

Foram utilizadas três células nas quais se colocaram quantidades iguais de MN, 1 mL, sendo que em duas delas se adicionaram alíquotas de 2,5 μ L de soluções de cobre, com pH ajustado a 6,8, em diferentes concentrações. Na terceira célula, não houve nenhuma adição do metal em estudo. Após esse processo, adicionaram-se 2,0 μ L de bactérias em MN a cada uma das células. Logo a seguir, as células já preparadas com todas as adições necessárias foram transferidas para uma estufa com temperatura controlada a 37 °C e posteriormente conectadas aos osciladores. Foram executados experimentos

idênticos substituindo o MN por água da ria devidamente filtrada, utilizando-se filtro de acetato de celulose 0,45 µm.

Todos os experimentos ocorreram em grupos de três, devido ao fato de serem realizados com diferentes concentrações de Cu^{2+} em contato com as bactérias e de sempre haver necessidade de um controle só com bactérias, possibilitando assim a comparação entre os resultados obtidos.

7.2.3.2 Monitoração do Crescimento Bacteriano Utilizando a Espectrofotometria UV-VIS

A monitoração do crescimento bacteriano utilizando a espectrofotometria UV-VIS 2101 PC marca Shimadzu foi realizada utilizando-se células de quartzo com percurso ótico de 0,5, 1, 5 e 10 cm a um comprimento de onda de 600 nm. Durante todo o experimento com as bactérias em contato com o cobre, todas as células de quartzo contendo as soluções a serem analisadas foram armazenadas à temperatura de 37 °C.

7.2.3.3 Estudo da Morfologia Bacteriana

Para o estudo da morfologia bacteriana, na forma natural ou em contato com o metal em estudo, recorreu-se à técnica da Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM), modelo Hitachi 9000, com uma voltagem ajustada para 100 kV, ampliação 19×1000 , Focus Step 0F2 720 nm. As bactérias, tanto em presença como na ausência de cobre, tiveram crescimento em erlenmeyers à temperatura de 37 °C, e os meios resultantes foram transferidos para tubos de uma ultracentrífuga Beckman L8-80K, rotor swing-out SW 28, em contato com uma grelha de cobre formvar de 400 mesh, marca Labometer. Após esse processo, os tubos foram submetidos à ultracentrifugação, onde permaneceram por um período de 2 horas, a 20 °C e 20.000 rpm. Posteriormente, as grelhas já com as bactérias dispostas sobre sua superfície foram retiradas e levadas ao microscópio eletrônico para observação.

7.2.3.4 Determinação da Concentração de Cobre na Água da Ria

A determinação da concentração de cobre, dissolvido e na matéria particulada, presente na água da ria foi realizada com uma MECQ, utilizando o método da VRA, conforme descrito no capítulo 5.

7.2.3.5 Determinação da Viscosidade do Meio Bacteriano

A viscosidade relativa do meio bacteriano foi determinada por meio de um capilar Cannon Fenske Serie 75 à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.05$ imerso em banho termostatzado marca Julabo.

7.3 Resultados e Discussão

7.3.1 Identificação da Bactéria

Com base na seqüenciação do DNA, concluiu-se que as bactérias são do tipo *Microbacteriaceae*.

7.3.2 Monitoração do Crescimento Bacteriano no Cristal Piezoelétrico e o Efeito do Cobre

O monitoração do crescimento bacteriano no cristal piezoelétrico foi realizado tanto em presença como na ausência de cobre. A metodologia utilizada não exigiu revestimento preliminar do cristal e as variações de frequência de oscilação foram consequência de mudanças observadas nas propriedades da solução durante o crescimento bacteriano. Embora não tenha sido possível identificar todos os fatores responsáveis pela mudança observada na frequência — podendo a própria bactéria ser responsável por essas mudanças —, os valores de densidade e viscosidade do meio foram medidos antes e depois do crescimento bacteriano como forma de elucidar a resposta do sensor. Essas medidas foram realizadas antes e após 18 horas de crescimento bacteriano, tendo a amostra sido passada por um filtro com porosidade de 0,2 μm . O produto entre a densidade e a viscosidade relativa do meio analisado, a uma temperatura de 25 °C, sofreu uma variação de 1,814 a 1,782 devido à atividade bacteriana. De acordo com Kanasawa *et al.* [4], Bruckenstein *et al.* [5] e Nomura *et al.* [6], a diminuição do produto da densidade pela viscosidade é condizente com a observação de um aumento na frequência do cristal piezoelétrico de quartzo e decerto é importante para se compreender o mecanismo.

A Figura 7.2 mostra o crescimento de bactérias estuarinas isoladas da Ria de Aveiro em MN, ocorrido em contato com três cristais piezoelétricos. Os experimentos se deram simultaneamente, sendo o primeiro correspondente ao controle, ou seja, sem nenhuma adição de cobre, e os outros dois contendo concentrações de 18,8 e 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cobre. Após um pequeno intervalo de tempo, fase “lag”, observa-se que as frequências de

ambos os cristais piezoelétricos atingem a fase de crescimento exponencial, permitindo assim constatar que as bactérias cresceram no meio nutritivo mesmo na presença de cobre. A diferença que se pode observar é que, apesar de o patamar ter alcançado um maior decréscimo de frequência, sem nenhuma adição de Cu^{2+} , o crescimento bacteriano ocorre mais rapidamente na concentração de $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a concentração de $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} , observa-se que o crescimento bacteriano é prejudicado pelo fato de ter atingido um nível menor nas diferenças de frequência observadas e pela baixa velocidade de crescimento atingida.

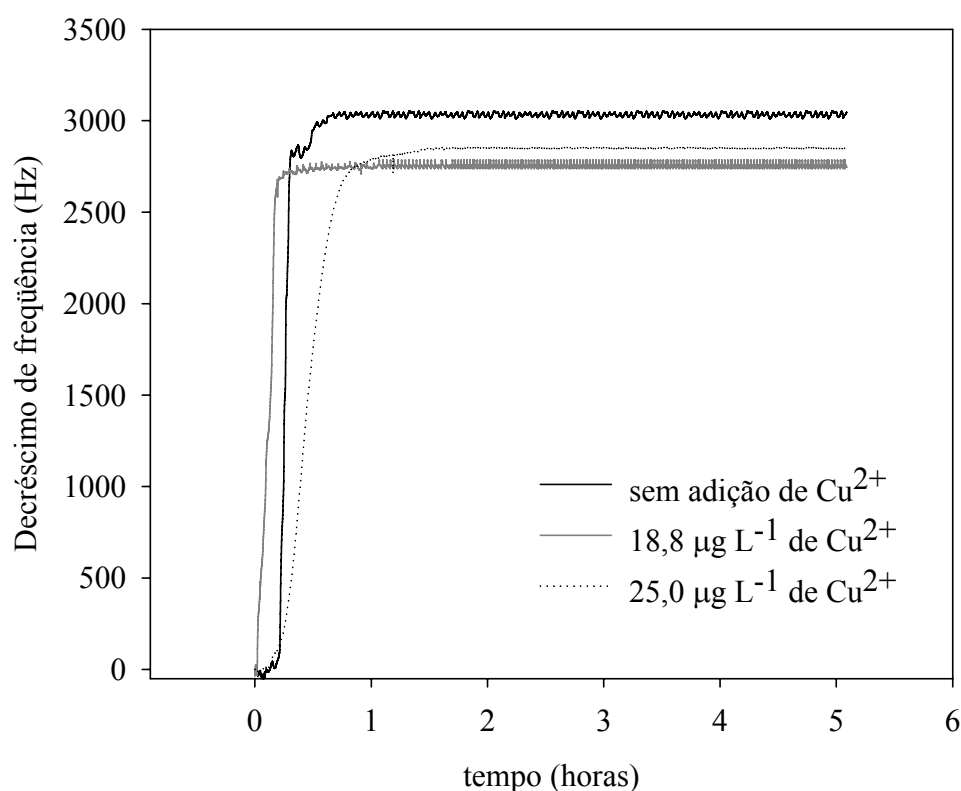


Figura 7.2 Crescimentos bacterianos em MN com diferentes concentrações de Cu^{2+}

A Figura 7.3 mostra o crescimento de bactérias estuarinas da água da Ria de Aveiro. Fazendo-se uma comparação entre as Figuras 7.2 e 7.3, pode-se observar diferenças marcantes, ou seja, o tempo necessário para atingir a fase exponencial é mais longo para os três cristais na água da ria do que para os que estiveram em contato com MN. Além disso, a quantidade de cobre já preexistente na ria, $3,38 \pm 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$, acaba por se somar aos valores de $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre e ter um efeito adverso no crescimento bacteriano.

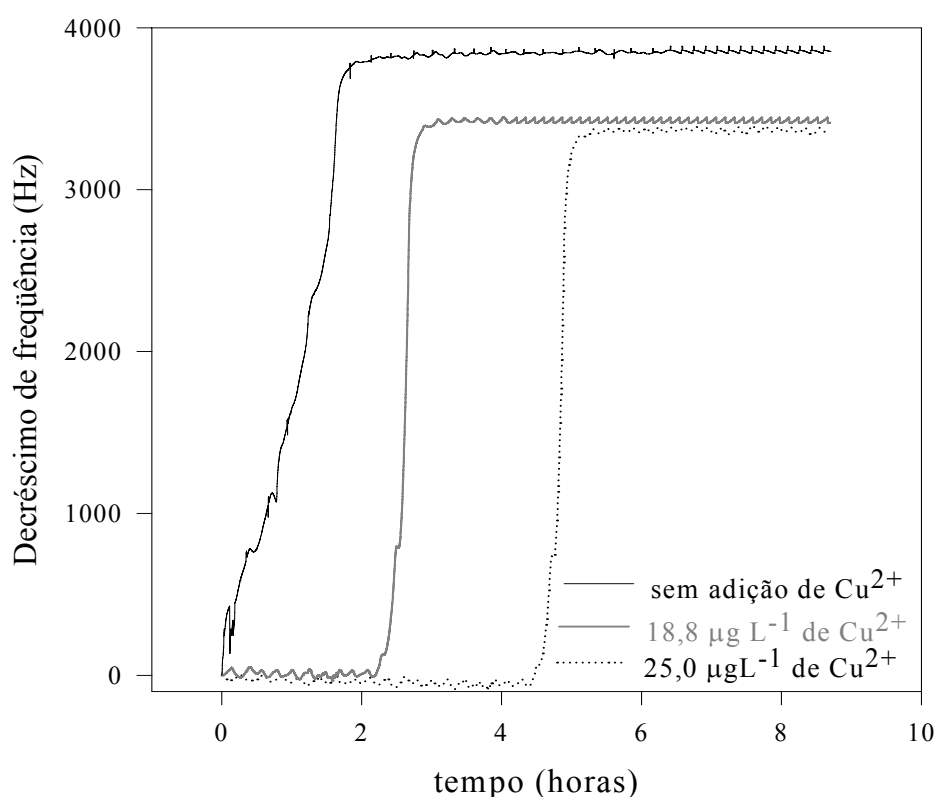


Figura 7.3 Crescimentos bacterianos em água da ria com diferentes concentrações de Cu^{2+}

A Tabela 7.1 mostra os valores obtidos para as velocidades de crescimento bacteriano durante a fase exponencial, corrigidos com o controle. O crescimento bacteriano em MN ocorreu em presença de concentrações de cobre variando entre 6,26 e 62,6 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto na água da ria o crescimento bacteriano teve lugar com concentrações de cobre somente até 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações subsequentes não foram consideradas na água da ria, devido ao fato de possuírem uma fase “lag” muito longa.

Cu^{2+} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Água da ria	MN
6,26	$1,167 \pm 0,105$	$4,900 \pm 0,454$
12,5	$1,987 \pm 0,092$	$5,665 \pm 0,463$
18,8	$0,901 \pm 0,089$	$4,637 \pm 0,882$
25,0	$0,093 \pm 0,017$	$0,882 \pm 0,039$
31,3	-	$0,494 \pm 0,063$
62,6	-	$0,392 \pm 0,018$

Tabela 7.1 Velocidades de crescimento bacteriano corrigidos com o controle

A fim de visualizar e discutir melhor os resultados expostos, tornou-se necessário confeccionar um gráfico que será representado pela Figura 7.4.

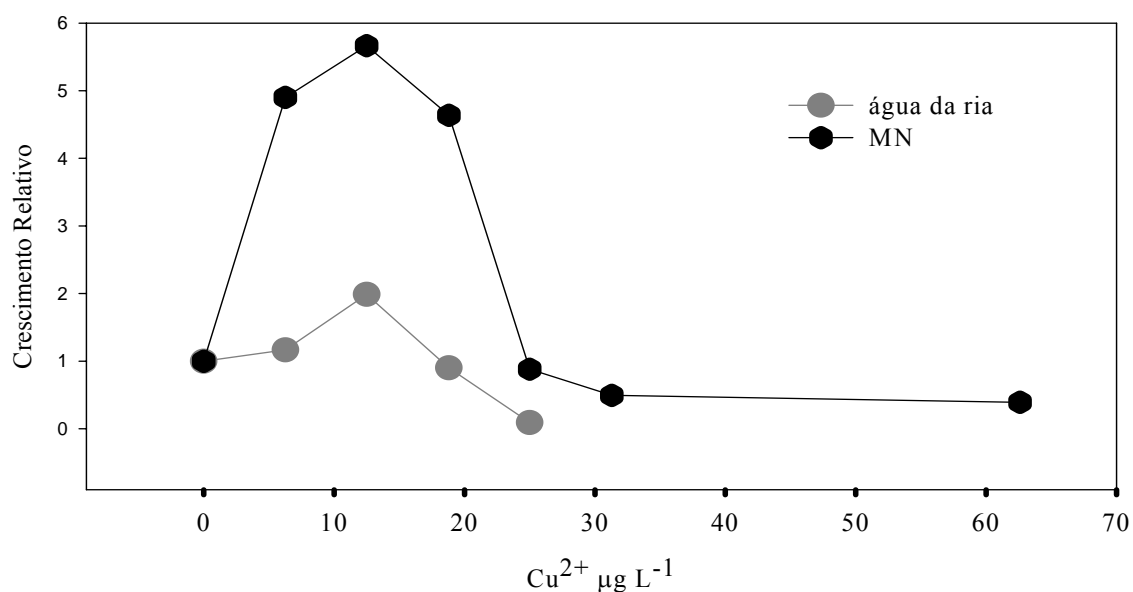


Figura 7.4 Velocidades de crescimento bacteriano em água da ria e MN corrigidas com o controle

Observa-se nessa figura o valor das velocidades de crescimento bacteriano em MN e água da ria no período de crescimento exponencial. A taxa de crescimento foi expressa como o aumento de frequência em função do tempo durante a fase exponencial, dividida pela taxa correspondente observada para o controle. Com base nos dados obtidos, pode-se observar que as variações nas velocidades de crescimento, induzidas pelo cobre, são maiores para MN do que para a água da ria, apesar de se observarem comportamentos semelhantes como pode ser observado no gráfico. A maior velocidade de crescimento registrada foi para a concentração de $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} , tanto em MN como na água da ria.

A Tabela 7.2 mostra os valores do crescimento bacteriano relativo, corrigidos com o controle, em concentrações de cobre variando entre $6,26$ e $62,6 \mu\text{g L}^{-1}$, tanto em MN como na água da ria ao longo do período de 4 h e 10 min.

$\text{Cu}^{2+} (\mu\text{g.L}^{-1})$	Água da ria	MN
6,26	$0,696 \pm 0,017$	$0,810 \pm 0,004$
12,5	$0,901 \pm 0,021$	$1,009 \pm 0,005$
18,8	$0,186 \pm 0,019$	$1,049 \pm 0,022$
25,0	$0,006 \pm 0,009$	$0,842 \pm 0,011$
31,3	—	$0,822 \pm 0,012$
62,6	—	$0,002 \pm 0,001$

Tabela 7.2 Crescimento bacteriano corrigido com controle ao longo de 4 h e 10 min

De maneira análoga, a Figura 7.5 mostra os resultados referentes aos valores que estão expostos na Tabela 7.2, obtidos com base na relação entre a diferença de frequência obtida no crescimento bacteriano total dividido pela diferença de frequência obtida no controle.

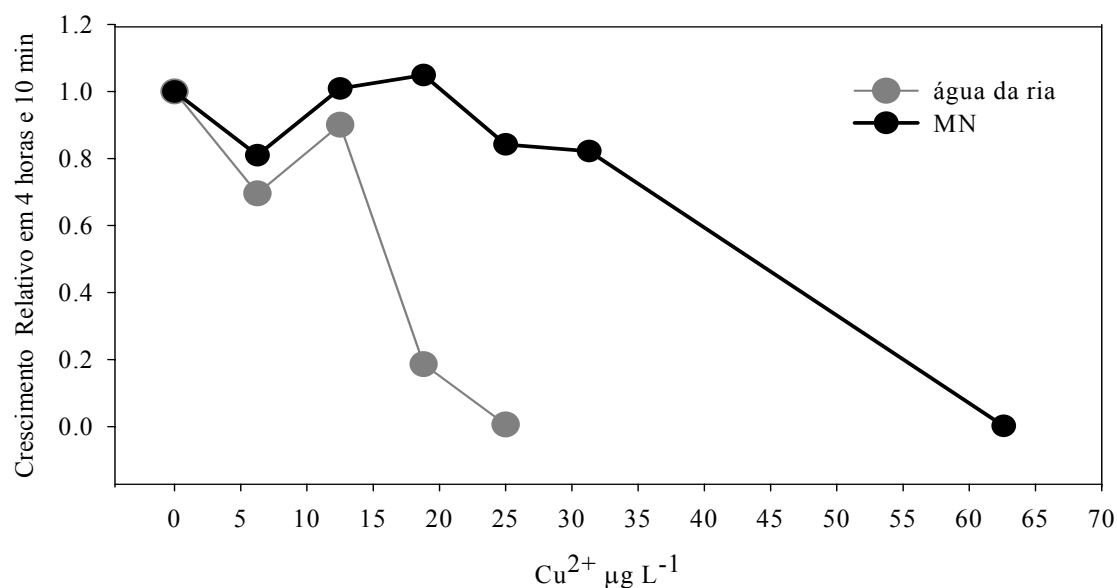


Figura 7.5 Crescimento bacteriano em água da ria e MN corrigidas com o controle ao longo de 4h e 10 min

Os resultados mostram que, em se tratando de crescimento, ou seja, nas variações de frequência que podem ser observadas tanto nas Figuras 7.4 como 7.5, o cobre exerce um efeito positivo para o crescimento bacteriano em baixas concentrações.

A Tabela 7.3 mostra o tempo obtido, em segundos, para se atingir o crescimento bacteriano em concentrações de cobre variando entre 6,26 e 62,6 $\mu\text{g L}^{-1}$, tanto em MN como na água da ria.

Cu^{2+} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Água da ria	MN
Controle	5391,36 \pm 38,63	653,64 \pm 32,12
6,26	4829,46 \pm 122,84	586,83 \pm 29,19
12,5	9928,31 \pm 39,78	392,76 \pm 46,82
18,8	16394,33 \pm 87,32	582,96 \pm 59,88
25,0	31048,74 \pm 126,92	1123,87 \pm 216,36
31,3	—	3894,87 \pm 387,12
62,6	—	18245,65 \pm 576,81

Tabela 7.3 Tempo em segundos para iniciar o crescimento bacteriano

Na Figura 7.6, podemos observar que o tempo para iniciar o crescimento bacteriano é muito menor em MN que em água da ria, embora para o caso do controle essa diferença esteja muito atenuada. Quando há adição de cobre, por menor que seja a concentração, sempre existe um atraso no início do crescimento.

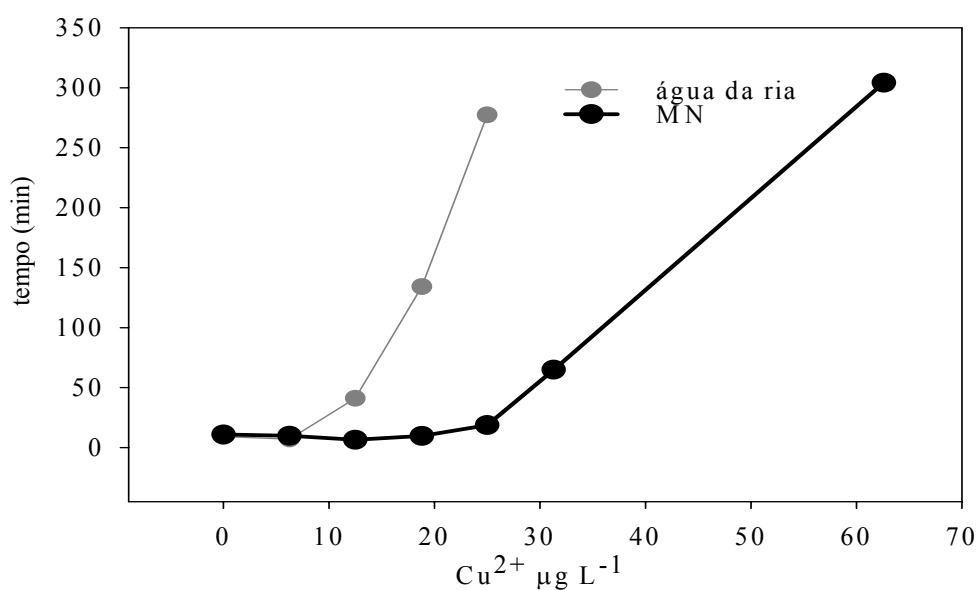


Figura 7.6 Tempo em minutos para iniciar o crescimento bacteriano.

Os resultados obtidos tanto para as Tabelas 7.1, 7.2, 7.3 como para as Figuras 7.4, 7.5 e 7.6 correspondem à média de seis determinações para cada concentração de Cu^{2+} , e pode-se constatar que o desvio padrão relativo nunca foi superior a 5,7%.

A toxicidade do cobre depende, além da concentração, de fatores tais como temperatura e pH. Os experimentos foram conduzidos com o controle rigoroso da temperatura em $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e nenhum tampão foi adicionado, de forma a permitir que o pH da solução mude naturalmente devido à ação das bactérias. Para o controle do pH da solução de Cu^{2+} , procedeu-se à adição de amônia até se atingirem os mesmos valores de pH do MN e da água natural (7,2 para água e 6,8 para MN). Com tal procedimento, os resultados podem ter sido afetados não só pelo efeito do próprio NH_3 como também pelo fato de esse composto formar complexos com o cobre, apesar da baixa constante de estabilidade verificada.

7.3.3 Monitoração do Crescimento Bacteriano Comparando-se a MCQ com a Espectrofotometria no UV-VIS

A monitoração do crescimento bacteriano foi realizada utilizando tanto a MCQ como o Espectrofotômetro UV-VIS, a fim de promover a comparação entre os métodos. A Figura 7.7 mostra as frequências obtidas mediante um cristal piezoelétrico em contato com bactérias em MN com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} . Com base nos dados obtidos, observa-se que após a fase “lag”, a frequência do cristal piezoelétrico aumentou exponencialmente, e que após 2 horas atingiu estabilidade, permanecendo depois disso a mesma, até o final do experimento.

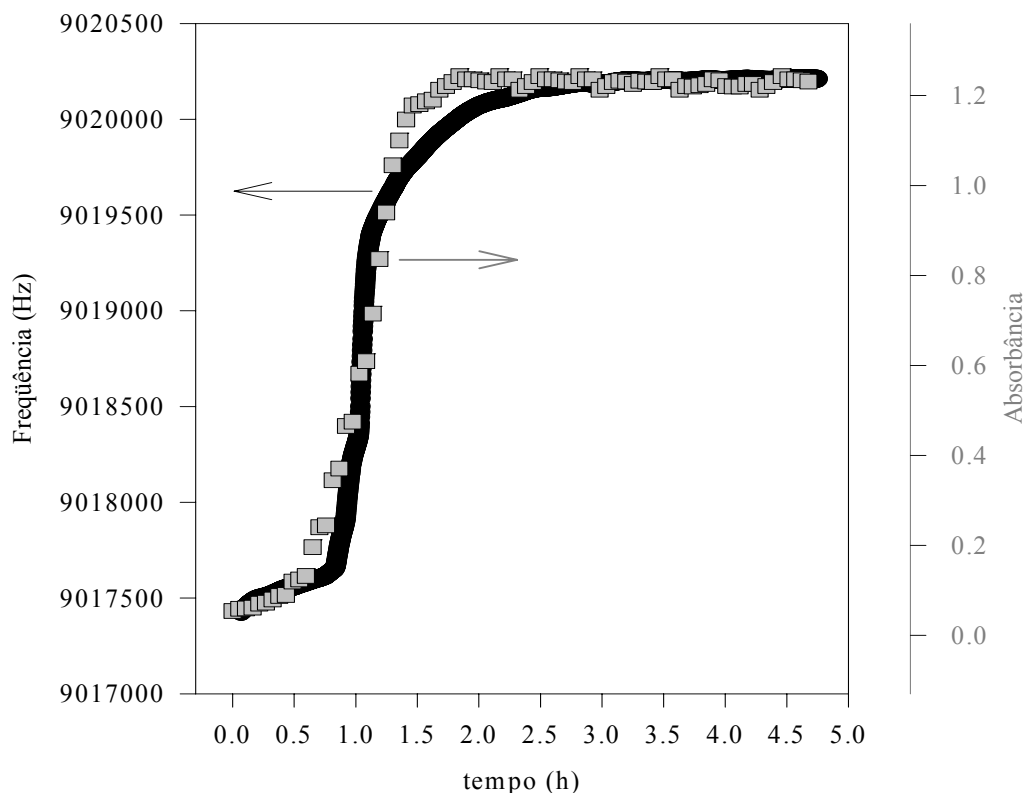


Figura 7.7 Monitoração dos crescimentos bacterianos em MCQ e Espectrofotometria com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} .

Nesse mesmo gráfico, observa-se também o experimento realizado com a Espectrofotometria, cujos dados mostram os valores de absorbância em função do tempo. Apesar de as técnicas empregadas serem distintas, ambos os experimentos ocorreram ao mesmo tempo e nas mesmas condições de temperatura e concentração, podendo-se observar que a forma das curvas obtidas tanto para frequência como para absorbância são muito semelhantes. Apesar da similaridade dos resultados, é importante mencionar que não houve contagem de bactérias para a realização dos experimentos, e sim o cuidado de se retirar a mesma quantidade de solução contendo bactérias, tanto para a célula da MCQ quanto para a utilizada no UV. Outro fator relevante a ser considerado nesses experimentos foi a flutuação das temperaturas, que porventura ocorreu tanto entre a estufa utilizada para as células dos cristais, como para as células do UV. Para tanto, ambas tiveram as temperaturas controladas em 37 °C, com possível variação ± 2 °C. Mesmo após se observarem todos esses pormenores que poderiam causar desvios em ambos os experimentos, nota-se que as formas de ambas as curvas obtidas, (Figura 7.7), condizem com outros estudos realizados sobre o comportamento de bactérias em contato com contaminantes [7]. Isso leva a crer que é possível monitorar o crescimento bacteriano com o cristal piezoelétrico em tempo real, ao passo que para as leituras obtidas no UV é necessário utilizar células com diferentes percursos óticos ao longo do experimento, devido ao fato de que com o crescimento bacteriano há mudança nos valores de absorbância.

7.3.4 Estudo dos Efeitos do Cu^{2+} na Morfologia das Bactérias

O estudo dos efeitos do cobre na morfologia das bactérias foi realizado utilizando-se a Microscopia Eletrônica. As imagens foram obtidas com bactérias em MN, tanto em presença como na ausência de cobre. As concentrações de Cu^{2+} a que as bactérias foram expostas, por um período de 33 minutos, foram de $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$.

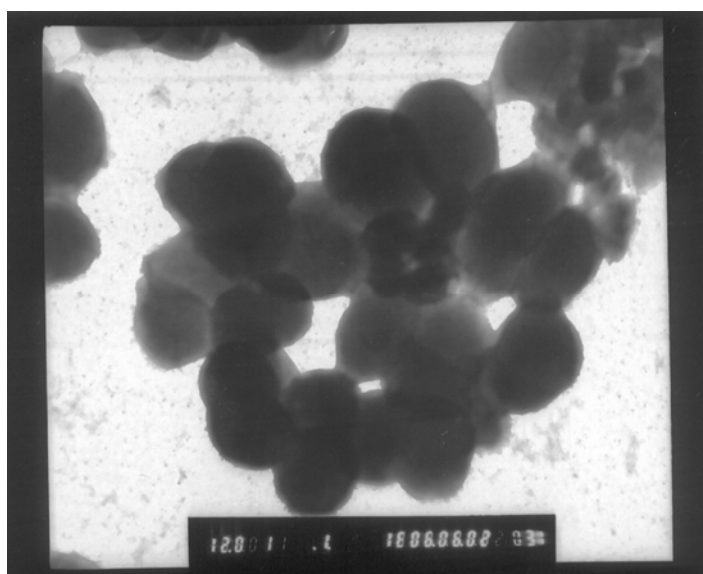


Figura 7.8 Imagem bacteriana em MN

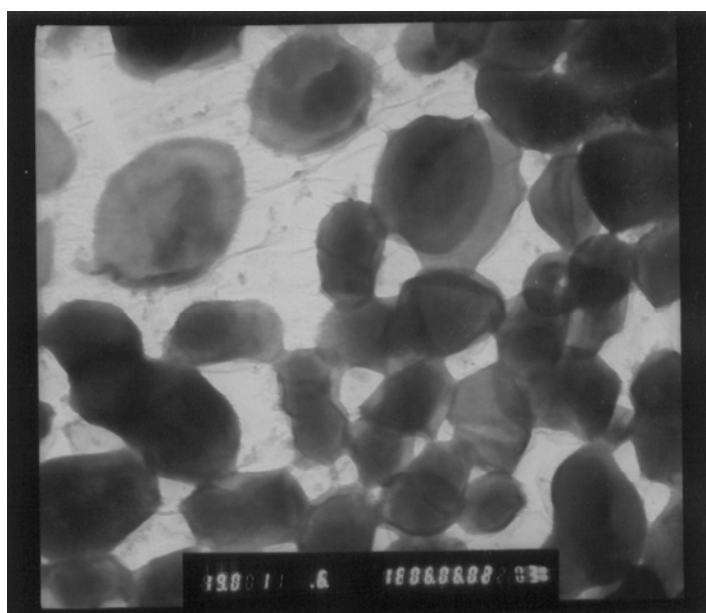


Figura 7.9 Imagem bacteriana em MN com $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} após 33 minutos.

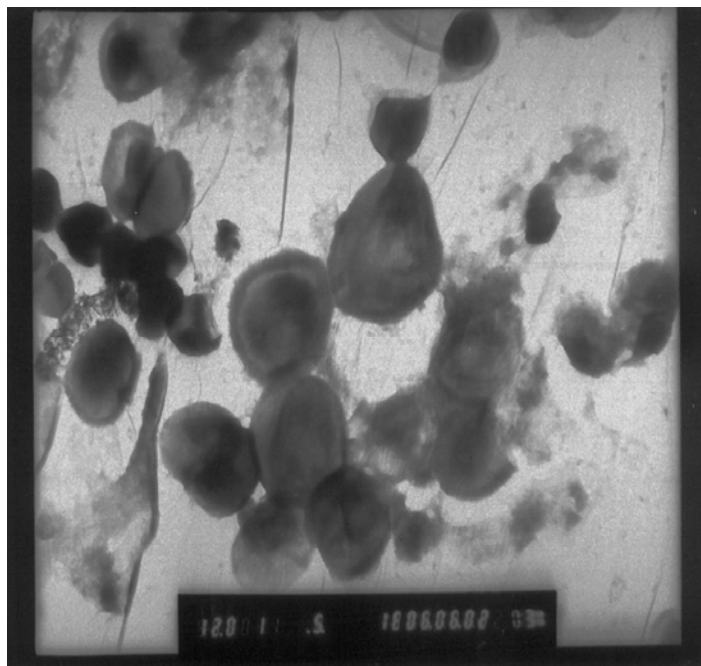


Figura 7.10 Imagem bacteriana em MN com $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} após 24 horas.

Depois de se observarem e compararem as figuras, constata-se que as bactérias em presença de $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} permaneceram sem alterações aparentes. Todavia, as mesmas bactérias em contato com $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} por um período de exposição de 24 horas, já não se observa o mesmo fato, e sim o início da destruição de suas paredes celulares. Danos estruturais produzidos por cobre já foram reportados para *Saccharomyces cerevisiae* [7].

7.4 Conclusões

O cristal piezoelétrico de quartzo é um sensor de massa adequado à monitoração do crescimento bacteriano e apresenta-se como uma alternativa prática e eficiente aos métodos tradicionalmente usados em microbiologia, que exigem maiores quantidades de meio nutritivo e bactérias.

O comportamento das bactérias na presença de Cu^{2+} tem um efeito positivo para as concentrações até $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ no MN e a taxa de crescimento é superior à obtida na ausência de metal, podendo-se concluir que o Cu^{2+} é um micronutriente para essa estirpe de bactérias. No entanto, esse metal pode agir como um retardador do início do crescimento em concentrações mais elevadas do metal.

7.5 Referências Bibliográficas

- [1] Reid, G. K. e Wood, R.D. *Ecolgy of inland waters and estuarines*. 2nd edition. D van Nostrand, New York, 1976.
- [2] Campbell, R. *Microbial ecology*. 2nd edition . Blackwell Scientific Publications. Oxford, 1983.
- [3] Reinheimer, G. *Microbiologia de Las Aguas*. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza (España), 1987.
- [4] Kanasawa, K. K., Gordon II, J. G. *The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with a liquid*. Anal. Chim. Acta **1985**, 175, 99-105.
- [5] Bruckenstein S., Shay, M. *Experimental aspects of use of the quartz crystal microbalance in solution*. Electrochim. Acta **1985**, 30, 1295-1300.
- [6] Nomura, T., Okuhara, M. *Frequency shifts of piezoelectric quartz crystals immersed in organic liquids*. Anal.Chim. Acta **1982**, 142, 281-284.
- [7] Sani, R. K., Peyton, B. M., Brown, L. T. *Copper-Induced Inhibition of growth of Desulfovibrio desulfuricans G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead*. Appl. Environ, Microbiol. **2001**, 67, 4765-4772.

Foi desenvolvida uma metodologia utilizando-se a MECQ, que permitiu determinar metais ao nível de traços em ambientes estuarinos. A Ria de Aveiro foi o estuário onde foram desenvolvidos os estudos de quantificação do Cu^{2+} e Pb^{2+} , tanto na forma dissolvida como particulada. As amostras de água foram coletadas em 2 pontos transversais do Canal da Barra da Ria de Aveiro, ao Centro e margem Norte, em diferentes horários. No centro do Canal foram coletadas amostras tanto à Superfície como ao Fundo, enquanto que à margem Norte foram coletadas amostras apenas à Superfície. As amostras foram coletadas na Maré Viva, dia 26 de Junho de 2002, nos períodos de Baixa-Mar, Meia-Maré e Preia-Mar e também em 4 de Julho do mesmo ano, nos períodos de Meia -Maré, Preia-Mar e Baixa-Mar. Os valores máximos obtidos para Cu dissolvido foram de $5,06 \mu\text{g L}^{-1}$ e na matéria particulada foram de $4,96 \mu\text{g g}^{-1}$. Esses valores foram encontrados no período de Maré Morta, Preia-Mar, no centro e ao fundo, do Canal. Observou-se também que a salinidade aumentou sempre da superfície para o fundo e, conseqüentemente, a concentração de cobre na água, podendo-se correlacionar este aumento com uma diminuição na adsorção do cobre e a liberação do mesmo do sedimento e material particulado. Não foi possível quantificar o cobre lábil e nem o chumbo, total e lábil, concluindo-se que esses metais estiveram abaixo dos limites de detecção do método que foram de $1,46 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,79 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente para o cobre e chumbo.

Dando continuidade à eletroquímica, foram realizados estudos de adsorção colocando-se o Pb^{2+} em contato com o ácido húmico. Essa metodologia foi possível pelo fato do eletrodo de trabalho ter sido um cristal piezoelétrico, o que veio permitir identificar fenômenos de adsorção na sua superfície. Além disso, foi também possível realizar estudos da deposição de metais em subtensão.

Desenvolveu-se também uma metodologia que permitiu realizar estudos de adsorção do Cu e Pb em contato com substâncias que reconhecidamente desempenham um papel importante nos sistemas aquáticos. Essa pesquisa se realizou, colocando-se o cobre e o chumbo em contato com uma substância orgânica (ácido húmico) e óxidos metálicos (Fe e Mn). Para tanto, revestiram-se os cristais de quartzo com substâncias que permitiram modelar esses componentes existentes nos sistemas estuarinos. Os estudos demonstraram que o sensor de onda acústica utiliza uma metodologia simples e eficiente

para observar fenômenos de adsorção em superfícies sólidas e provou ser, além de mais simples, mais rápida que as metodologias habituais. Nela, os fenômenos de adsorção foram monitorados em tempo real e as capacidades de adsorção relativas de cobre e chumbo em contato com MnO_2 , $\alpha\text{-FeOOH}$ e AH concordaram com trabalhos que se basearam em outras técnicas, tendo-se verificado que Cu^{2+} é preferencialmente adsorvido pelo $\alpha\text{-FeOOH}$ e em menor ordem de grandeza para o MnO_2 e AH, enquanto que o Pb^{2+} é adsorvido preferencialmente pelo MnO_2 e AH e em menor quantidade para o $\alpha\text{-FeOOH}$. O modelo de Langmuir pôde ser ajustado aos dados das isotermas de adsorção, tendo sido calculadas as entalpias de adsorção para cada adsorvente, ou seja, $-31,58 \text{ kJ mol}^{-1}$ para MnO_2 , $-30,32 \text{ kJ mol}^{-1}$ para $\alpha\text{-FeOOH}$ e $-27,47 \text{ kJ mol}^{-1}$ para AH quando em contato com o Cu^{2+} . Para o Pb^{2+} os valores foram de $-31,20 \text{ kJ mol}^{-1}$ para $\alpha\text{-FeOOH}$, $-33,26 \text{ kJ mol}^{-1}$ para MnO_2 e $-21,71 \text{ kJ mol}^{-1}$ para AH.

Outra metodologia foi desenvolvida a fim de monitorar o crescimento de bactérias originárias da Ria de Aveiro, na presença de quantidades conhecidas de cobre, por meio da MCQ. A metodologia baseou-se nas mudanças que a densidade e viscosidade do meio bacteriano provocaram na frequência do cristal piezoelétrico. Dessa forma, foi possível determinar a quantidade a partir da qual o cobre se tornou tóxico e provocou a destruição das bactérias. O comportamento bacteriano, na presença de Cu^{2+} , teve um efeito positivo para as concentrações até $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ e a taxa de crescimento foi superior à obtida na ausência de metal, podendo-se concluir que o Cu^{2+} é um micronutriente para essa estirpe de bactérias. No entanto, esse metal pode agir como um retardador do início do crescimento em concentrações mais elevadas do metal.

Com base no que foi exposto até agora, conclui-se que o cristal piezoelétrico de quartzo é um sensor de massa adequado à monitoração do crescimento bacteriano e apresenta-se como uma alternativa prática e eficiente aos métodos tradicionalmente usados em microbiologia, que exigem maiores quantidades de meio nutritivo e bactérias.